

---

## **Biofilms en milieu marin**

**C. Compère**

IFREMER, Laboratoire Matériaux Marins, BP 70, 29280 Plouzané

\*: Corresponding author : Tél : 02 98 22 41 74 Fax : 02 98 22 45 35 [ccompere@ifremer.fr](mailto:ccompere@ifremer.fr)

---

### **INTRODUCTION**

Presque toutes les surfaces immergées en milieu marin sont sujettes au développement d'un voile biologique, à l'exception de quelques organismes vivants comme les éponges qui ne subissent pas de colonisation importante, sans raisons scientifiques actuellement connues. La présence de ce biofilm est à l'origine de nombreux problèmes dans le domaine océanographique et pour les activités marines. Cet article présente quelques inconvénients relatifs à l'existence de ces salissures et développe les principales études menées à l'IFREMER concernant les moyens de lutte les plus fréquemment employés. Cependant, les agents antisalissures généralement utilisés pour protéger les structures sont toxiques et peuvent avoir des conséquences désastreuses vis à vis de la faune et de la flore de l'environnement marin. De plus, l'emploi de biocides et/ou les nettoyages réguliers de structures augmentent considérablement les coûts d'exploitation des industries marines. Il apparaît donc essentiel de comprendre les processus d'adhésion et de croissance de biofilm, surtout lors des premières étapes d'adhésion, afin de développer une approche alternative aux traitements traditionnels contre les salissures marines.

## I. NATURE DES BIOFILMS ET FORMATION

La formation d'un biofilm sur les surfaces exposées en eau de mer a fait l'objet de nombreuses études tant en milieu naturel qu'en laboratoire avec notamment des études à partir de souches pures [1-3]. Hors, malgré une littérature abondante, les mécanismes d'adhésion et en particulier les étapes initiales lors des premières heures d'immersion restent encore incompris. Le groupe BASIS (Biofilm Adhesion on Substrates Immersed in Sea water) regroupant différents laboratoires de recherche : le Centre d'Etudes de Chimie Métallurgique, CNRS, (Vitry/Seine), le Laboratoire Physico-Chimie des Surfaces de l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Paris, le Laboratoire de Génie de l'Hygiène et des Procédés Alimentaires, INRA, (Massy), le Laboratoire de Génétique Moléculaire des Micro-organismes, INSA (Lyon), l'unité de Physico-Chimie et de Physique des Matériaux de l'Université Catholique de Louvain, constitué en 1996 et coordonné par IFREMER, a pour objectif d'étudier les premières étapes de fixation d'un biofilm en faisant appel à des techniques récentes et puissantes d'analyses de surface. Celles-ci sont la spectroscopie Photoélectronique X-ray (AR-XPS), pour la caractérisation chimique du film passif associée à la spectrométrie ionique de masse à temps de vol (ToF-SIMS) pour la caractérisation chimique des espèces organiques adsorbées, à la spectroscopie Infra-rouge (IRRAS) pour la description des liaisons chimiques, à la microscopie à force atomique (AFM) pour l'identification de la morphologie, de l'épaisseur et de l'homogénéité du film organique, à la microscopie confocale laser (CLM) et aux mesures d'angle de contact pour la détermination du caractère hydrophile/hydrophobe et acido-basique de la surface.

### I.1. Film primaire

L'exposition de quasiment tout substrat en milieu marin conduit à une colonisation rapide de celui-ci, suivant une séquence couramment admise d'un film primaire, essentiellement composé de macromolécules organiques (exopolymères, glycoprotéines, acides humiques) et/ou inorganiques présentes dans le milieu ou sécrétées par les micro-organismes vivant dans ce milieu [4-5], puis de bactéries et ensuite de macro-organismes. La phase de fixation des organismes de plus grande taille, les macrosalissures, (essentiellement constituées d'invertébrés sessiles et d'algues macroscopiques) est toujours postérieure même si la première étape de macrosalissures ne semble pas toujours indispensable. Le film primaire est essentiel, car c'est lui qui, en modifiant certaines propriétés de surface (tension de surface, énergie libre de surface [6-7], polarité, mouillabilité) du matériau conditionne l'attachement ultérieur des bactéries.

Les premières études du groupe BASIS ont été menées sur l'acier inoxydable immergé en eau de mer naturelle lors de courtes périodes d'exposition (2, 5, 8 et 24h) et à diverses périodes de l'année [8-9]. Après immersion en eau de mer naturelle, au Laboratoire Matériaux Marins d'IFREMER (BREST), les échantillons sont stockés dans leurs eaux d'immersion et envoyés congelés sous carboglace par transporteur rapide aux différents laboratoires d'analyse. Les analyses XPS et Infrarouge rasante ont permis de révéler différentes étapes lors de la formation de ce film primaire avec en premier lieu une adsorption essentiellement de protéines puis dans un second temps de carbohydrates. De plus, les observations AFM révèlent que les films sont fortement hétérogènes, certaines parties du support restant encore apparentes alors que d'autres régions présentent un dépôt de plusieurs nm d'épaisseur. Les mesures d'angle de contact confirment ces résultats et indiquent une augmentation du caractère hydrophile de la surface d'acier inoxydable en fonction du temps

d'immersion en eau de mer naturelle. Des études sont également menées parallèlement en eau de mer artificielle et eau de mer naturelle stérile.

## I.2. Adhésion réversible

L'attachement bactérien intervient lui-même quelques heures après l'immersion en deux étapes successives [10-12]. Dans un premier temps, la fixation des bactéries est réversible sur le support. Elle met en jeu de faibles interactions entre le support et les cellules. La théorie DVLO, du nom de ses auteurs [13], explique la fixation réversible par interactions électrostatiques et forces de Van Der Waals. Les micro-organismes, facilement détachables du substrat par simple rinçage, sont alors à une distance limite des surfaces, supérieure à 3 nm [14].

## I.3. Adhésion irréversible

Dans un second temps, l'adhésion de ces micro-organismes est rendue irréversible par la sécrétion de polymères extra-cellulaires formant des ponts de fixation entre la cellule et la surface. L'attachement irréversible des micro-organismes met en jeu, quant à lui, des interactions de haute énergie. Les forces intervenantes sont du type dipôle-dipôle, interactions Debye, interactions ion-dipôle, liaisons hydrogène, ou ponts polymériques. Ces exopolymères ont un rôle multiple : ils assurent l'attachement irréversible des micro-organismes aux surfaces mais également le piégeage des éléments nutritifs, (matière organique et inorganique), nécessaires à la croissance bactérienne et protègent ces mêmes bactéries d'agressions de nature biochimiques, chimiques ou biologiques.

Si les conditions physico-chimiques de l'interface leur sont favorables, les bactéries vont se multiplier sous forme de micro-colonies [15]. La fusion de ces colonies et de leurs sécrétions de polymères constitue le voile bactérien ou biofilm. Les microsalissures sont constituées d'organismes microscopiques : bactéries, diatomées, protozoaires, champignons... Les premiers colonisateurs identifiés sont essentiellement des bacilles de petite taille : *Pseudomonas* et *Flavobacterium* (du type copiotrophes) suivis de bactéries de forme diversifiée en particulier des formes pédonculées : *Caulobacter* et *Hyphomicrobium* (du type oligotrophes). Des études qualitatives et quantitatives de développement de biofilm bactérien réalisées sur 3 supports différents immergées en eau de mer naturelle circulante (acier inoxydable, aluminium, filtre nucléopore) sur le site de Ste Anne du Portzic ont permis de mettre en évidence de larges fluctuations saisonnières, tant au niveau densités bactériennes que cinétiques de colonisation [16]. La température semble être le facteur prépondérant du taux de colonisation; la période estivale est plus propice à une colonisation importante et rapide que la période hivernale. Concernant l'aspect morphologique, les différents types identifiés sont présents toute l'année, cependant les successions de peuplement (coques, bacilles, formes filamenteuses, pédonculées ou polaires) se font plus progressivement en hiver qu'en été. Les densités totales de bactéries en suspension dans l'eau de mer de surface (-30 cm) varient peu tout au long de l'année (entre  $7,1 \cdot 10^4$  et  $8,5 \cdot 10^5$  cellules/ml durant les années 1983-1984) et la flore viable (sur milieu gélosé) en eau de mer fluctue de  $10^2$  à  $1,1 \cdot 10^5$  cellules/ml pour les mêmes périodes mais aucune tendance saisonnière n'a pu être mise en évidence. L'adhésion des bactéries, la formation du voile biologique et son développement dépendent de plusieurs facteurs dont la physico-chimie du milieu (température, salinité, oxygène dissous, teneur en matière organique, etc.), la nature du substrat, la micro-topographie de surface et les conditions hydrodynamiques au niveau des surfaces [17]. La vitesse de colonisation est fortement influencée par la nature du substrat ainsi la présence de métaux lourds ( $Hg^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Ni^{2+}$ ) retarde de façon importante le développement d'un biofilm. De plus, les caractéristiques du substrat peuvent

considérablement modifier la communauté bactérienne [18]. Le biofilm développé sur divers supports s'avère fort hétérogène ainsi la Figure 1 présente une photographie prise au microscope à balayage de biofilms formés en eau de mer naturelle circulante sur acier inoxydable 316L après 9 jours et 21 jours d'immersion au printemps. Après 9 jours d'immersion, le biofilm est essentiellement composé de cellules en forme de bâtonnet à morphologie trapue ou allongée, des formes filamenteuses apparaissent également, la densité bactérienne est de l'ordre de  $10^6$  cellules/cm<sup>2</sup>. A 21 jours, le biofilm est multi-stratifié associé à de la matière particulaire. Les couches les plus profondes sont essentiellement composées de formes en bâtonnet à morphologie variable. Les bactéries sont engluées dans des exopolysaccharides; pour les couches supérieures, des formes filamenteuses s'entremêlent. Les densités bactériennes sont supérieures à  $10^7$  cellules/cm<sup>2</sup>. La Figure 2 montre une photographie obtenue au microscope à force atomique (Mike Walls, CECM, Vitry sur Seine) d'un biofilm sur verre après 2 jours d'immersion en eau de mer naturelle.

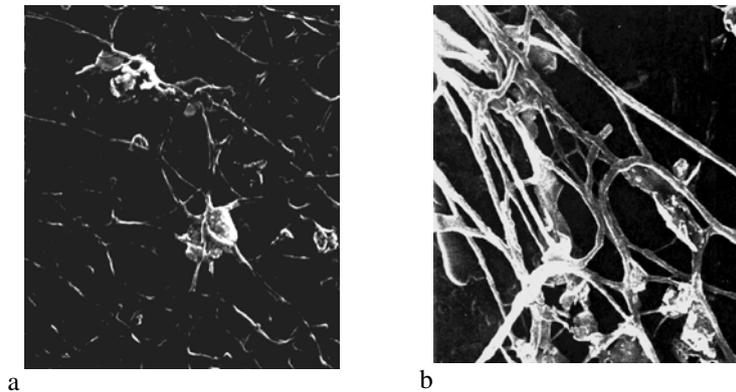


Figure 1 : Photographies obtenues au microscope à balayage de biofilm formé en eau de mer naturelle circulante sur acier inoxydable 316L après a : 9 jours et b : 21 jours d'immersion.  
Grossissement : x2000

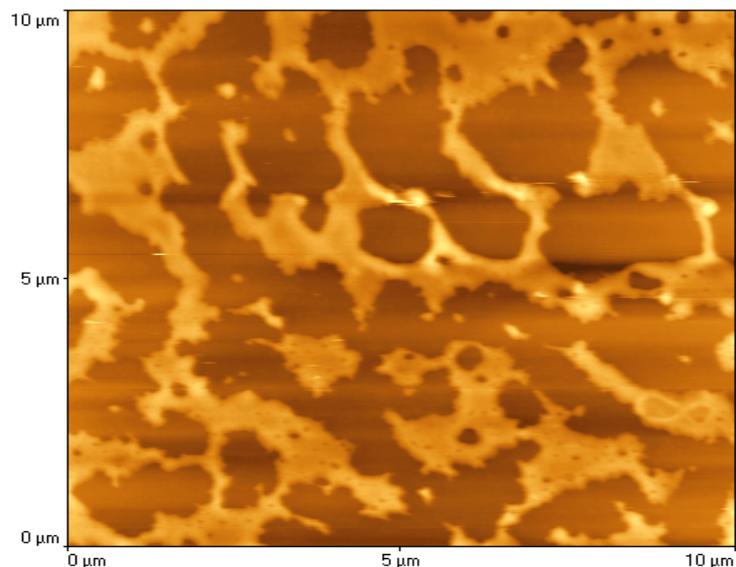


Figure 2: Image obtenue par microscopie à force atomique sur du verre immergé 2 jours en eau de mer naturelle (CECM-VITRY sur Seine)

## II. DETECTION DES BIOFILMS EN MILIEU MARIN

De nombreuses techniques de détection d'un biofilm sont actuellement disponibles [19], malheureusement dans la plupart des cas, les mesures ne peuvent être réalisées in-situ, en continu sur une même série d'échantillons et nécessitent un prélèvement de matière. Hors, il est important de pouvoir détecter et quantifier in-situ le développement d'un voile biologique afin de contrôler au mieux et réduire l'utilisation de biocides. Aussi, les techniques électrochimiques de détection and caractérisation de biofilms en eau de mer naturelle par analyse des phénomènes de transport de l'oxygène sous conditions hydrodynamiques contrôlées [20, 21] sont-elles des plus intéressantes. Ces techniques permettent la détermination de faible épaisseur de biofilm (inférieure à  $10\mu\text{m}$ ) directement dans les conduites d'eau de mer alors que des mesures telles que le suivi des paramètres de transfert de chaleur et de perte de charge sont sensibles à des épaisseurs nettement plus importantes, au moins 20 à  $30\mu\text{m}$ . De plus, le développement du biofilm et l'effet de l'injection d'un biocide peut être suivi sur les mêmes électrodes en fonction du temps, les mesures ne sont pas destructrices et n'exigent pas comme c'est le cas des observations microscopiques d'un nombre important d'échantillons prélevés régulièrement.

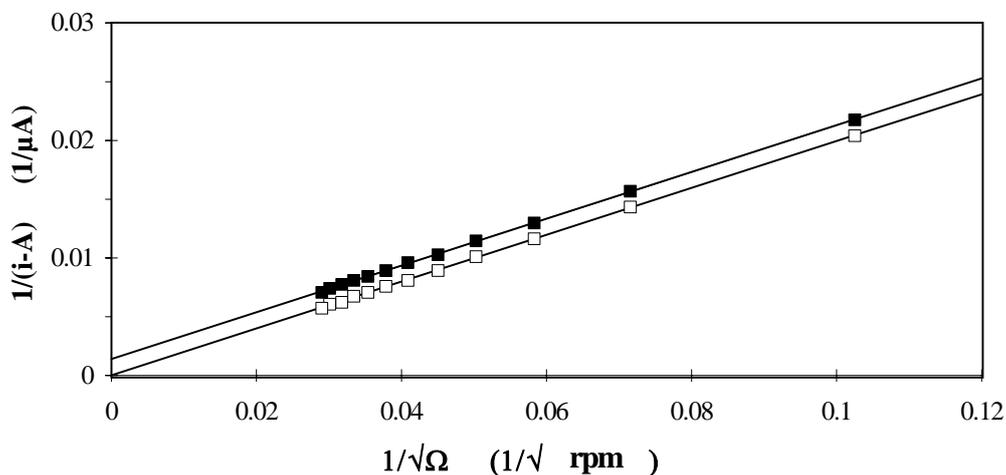


Figure 3 : Mesures du courant de réduction de l'oxygène en fonction de l'inverse de la vitesse de rotation en eau de mer naturelle sur électrodes tournantes d'or sans (□) et avec biofilm de 18 jours (■). A est le courant de réduction non diffusionnel  
Les lignes pleines représentent les valeurs calculées et les marques les valeurs expérimentales.

Les mesures de courant de réduction de l'oxygène, obtenues à potentiel imposé de  $-900\text{mV/SCE}$ , en fonction de l'inverse de la vitesse de rotation sur électrodes d'or immergées en eau de mer naturelle, Figure 3, montrent très clairement un changement important en fonction du développement d'un biofilm. Il devient alors très facile de suivre la croissance d'un biofilm à l'aide de ces mesures associées à des techniques électrochimiques d'impédance électro-hydrodynamiques et de contrôler son épaisseur par injection minimale de biocides.

## III. CONSEQUENCES DU BIOFILM

Les effets négatifs des biosalissures sur les matériaux et équipements sont nombreux : écran hydrodynamique, diminution des échanges thermiques, perte de propriétés optiques, blocage de fonctions mécaniques, accélération de la corrosion ou biodégradation [22]. La plupart des activités

marines y sont confrontées : ouvrages au large ou côtier, navires, plates-formes offshore, installations aquacoles, équipements océanographiques immergés pendant des durées de quelques jours à plusieurs mois voire des années. Les dépenses annuelles attribuées à l'existence de salissures marines sont énormes, à titre d'exemple, les opérations de nettoyage des noeuds des plates-formes pétrolières avant inspection sont estimées à des millions de FF/an en Mer du Nord; 500 millions de dollars de dépenses annuelles supplémentaires en fuel sont nécessaire à la Marine Américaine pour combattre la résistance de friction additionnelle occasionnée par la présence d'un biofilm .

La croissance d'un biofilm n'est pas toujours considérée comme un facteur de gêne; c'est le cas en conchyliculture où des substrats favorisant la fixation des huîtres sont recherchés, ou encore dans le cas de la protection de l'environnement marin avec les développements actuels concernant les bétons favorisant la prolifération d'un voile biologique. Cependant, l'avantage de la croissance d'un voile biologique reste limité, et les applications telles que traitement d'eaux polluées, récupération d'huiles, exploitation de la production d'exopolysaccharides bactériens par l'industrie pharmaceutique, alimentaire ou des cosmétiques...encore restreintes. Par la suite, quelques exemples d'inconvénients dus à la présence d'un biofilm sur une structure marine sont développés.

### III.1. Diminution des échanges thermiques

La formation d'un biofilm sur les parois de conduites réduit considérablement les transferts thermiques, ceci est particulièrement important dans le cas de tubes échangeurs de chaleur. La conductivité thermique d'un biofilm (0,6-0,7 W/mK) est proche de celle de l'eau mais nettement plus faible que celle des alliages métalliques (acier inoxydable 16,30W/mK) . Ainsi, un film d'une épaisseur de 55  $\mu\text{m}$  diminue de 20% le rendement d'une centrale d'après Baier [23].

Une méthode permettant d'estimer le coefficient d'échange thermique d'un tube échangeur a été développée à IFREMER [24]. La Figure 4 présente l'évolution du coefficient de transfert de chaleur et de perte de charge dans un tube de titane ( $\phi$  25 mm) en fonction du temps. La vitesse d'écoulement de l'eau de mer était de 1,5m/s. Après 30 jours, une diminution de 50% est atteinte correspondant à un biofilm de 100  $\mu\text{m}$  d'épaisseur.

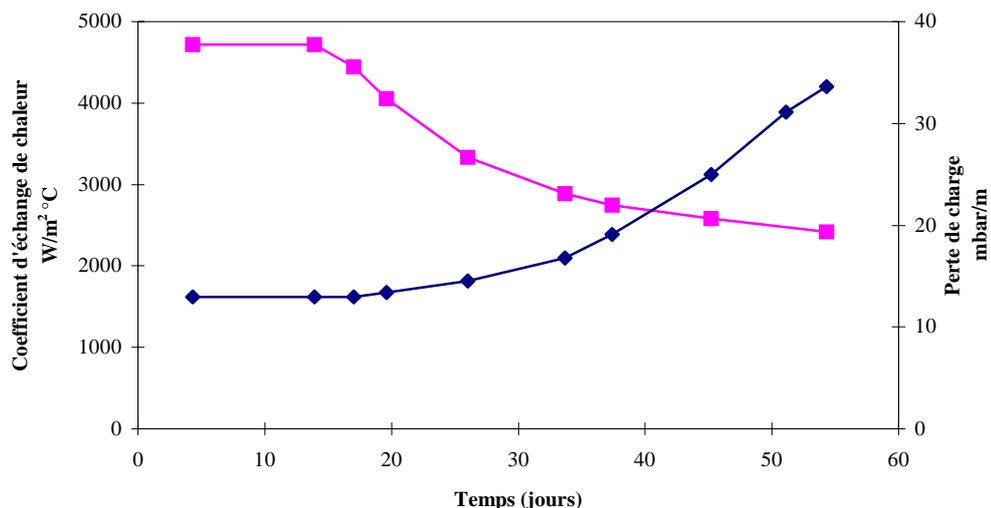


Figure 4: Evolution du coefficient d'échange de chaleur et de perte de charge dans un tube de titane en fonction du temps. Vitesse de circulation de l'eau de mer : 1,5 m/s.

### III.2. Déviation des réponses des capteurs océanographiques

Un problème important à signaler est la déviation des réponses de capteurs océanographiques dès la formation d'un biofilm sur leur partie sensible, ceci est particulièrement important lors de collectes de données en continu en milieu marin [25]. Ainsi, la Figure 5 présente l'évolution de la mesure de pH à l'aide d'une électrode de verre pendant plusieurs mois d'immersion en continu en eau de mer naturelle comparativement à des mesures de pH réalisées régulièrement après prélèvement et à l'aide d'un capteur parfaitement étalonné en laboratoire.

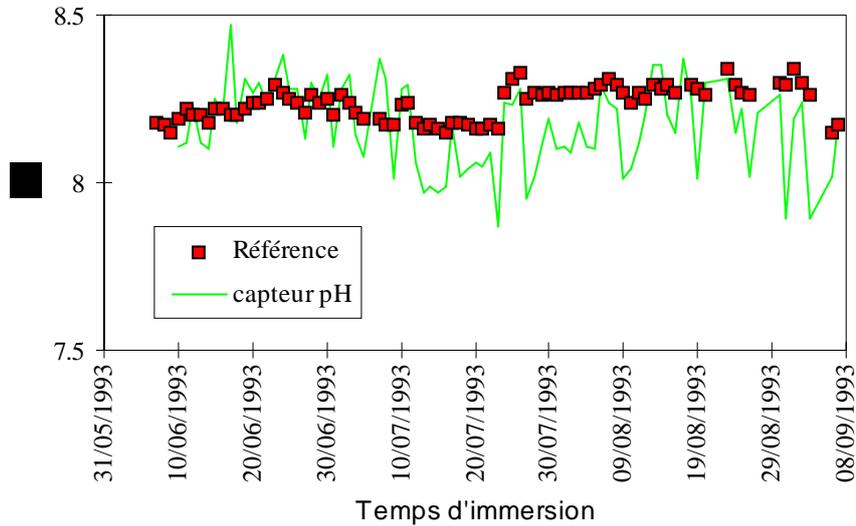


Figure 5 : Mesure de pH à l'aide d'une électrode de verre immergée en permanence en eau de mer comparativement à une mesure de référence.

De même, le développement d'un voile biologique sur les parties optiques d'équipements utilisés en milieu océanographique est fort problématique, c'est le cas lors de l'utilisation de caméras sous-marines ou lors de mesures effectuées à l'aide de fluorimètres ou néphélomètres. Ainsi, l'atténuation de la lumière à travers un coupon de verre immergé en eau de mer naturelle circulante est donnée dans la Figure 6 en fonction du temps d'immersion.

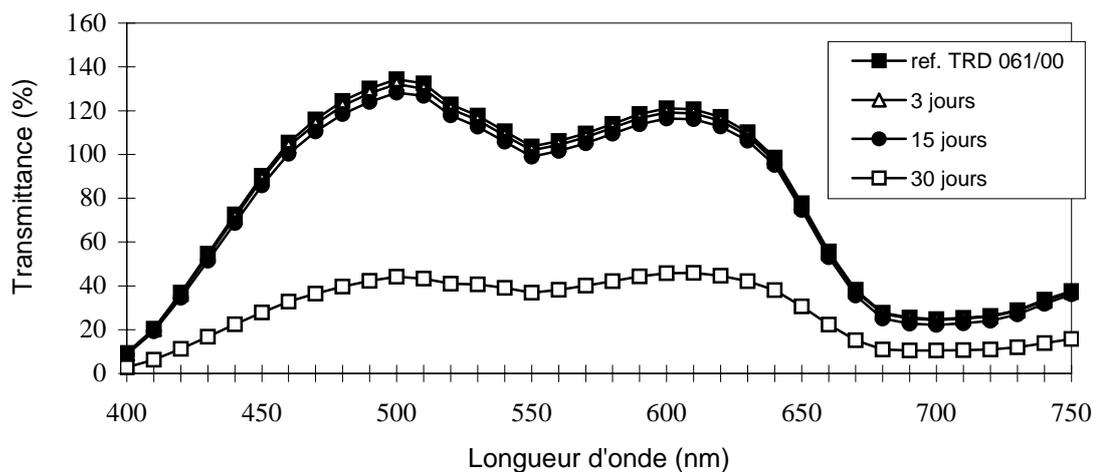


Figure 6 : Mesure de la transmittance de la lumière à travers des coupons de verre immergés en eau de mer naturelle circulante.

### III.3. Comportement des matériaux métalliques

L'effet du biofilm sur le comportement des aciers inoxydables a été étudié dans diverses eaux de mer (Océan Atlantique, Mer du Nord, Manche, Mer Méditerranée et Mer Baltique) [26,27]. L'évolution, en fonction du temps d'immersion en eau de mer naturelle, des paramètres électrochimiques des aciers inoxydables est fortement affectée par la présence ou l'absence d'une activité microbienne. Ainsi, le potentiel d'abandon des aciers inoxydables est très clairement plus élevé en milieu eau de mer naturelle comparativement à une eau de mer artificielle, Figure 7 [28]. Cette augmentation est observée quelque soit le site, la saison, la composition et la microstructure des aciers inoxydables. En fait, les cinétiques et peut-être aussi les mécanismes de la réaction de réduction de l'oxygène sont modifiés en présence d'un biofilm. Divers auteurs [29,30] suggèrent que les micro-organismes produisent du peroxyde d'hydrogène à travers une activité enzymatique de glucose oxydase et abaissent le pH conduisant à une augmentation du potentiel d'abandon des aciers inoxydables.

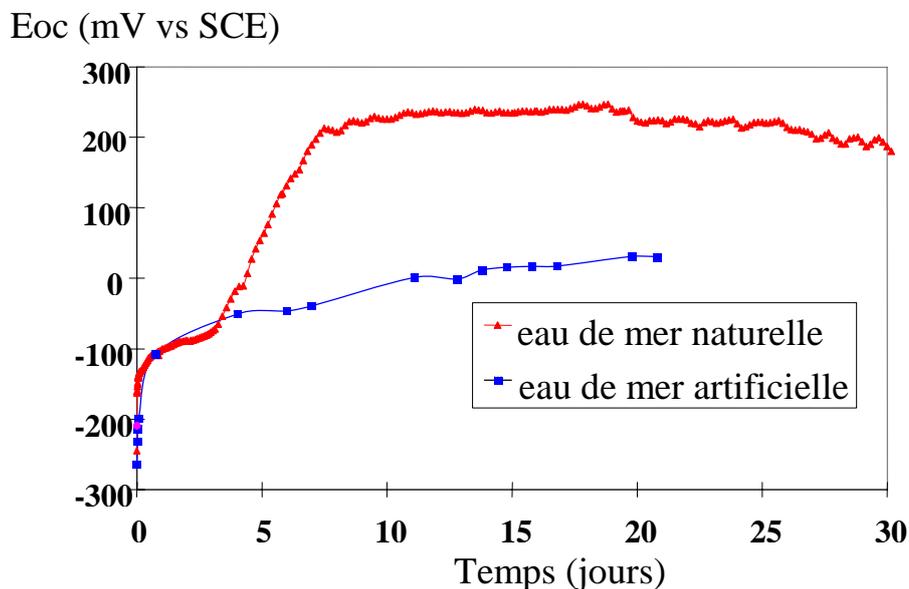


Figure 7 : Evolution du potentiel d'abandon d'échantillons d'aciers inoxydables Uranus B6 en eau de mer naturelle et eau de mer artificielle.

La corrosion induite par les micro-organismes ou biocorrosion est estimée chaque année à des milliards de dollars à travers le monde et a fait l'objet de nombreuses études [31,32]. Les mécanismes de corrosion font appel à des mécanismes électrochimiques classiques où le voile biologique agit directement ou indirectement, avec la formation de cellules de concentration d'oxygène dissous, pH,... ou avec la production de métabolites agressifs, (acides organiques/inorganiques, formation de sulfures) pour n'en citer que quelques-uns.

En milieu anaérobie, le développement de bactéries sulfurogènes peut conduire à des cas de corrosion graves sur les aciers et/ou des cas de fragilisation par l'hydrogène des aciers sous protection cathodique. Ceci est particulièrement dangereux pour les structures en aciers des ouvrages portuaires et dans le domaine pétrolier [33]. Si ces bactéries sont fréquentes dans le milieu, les conditions propices à leur développement ne sont cependant pas toujours rencontrées.

#### **IV. MOYENS DE LUTTE CONTRE LES SALISSURES EN MILIEU MARIN**

Eviter la fixation des bio-salissures est donc un problème économique crucial, notamment pour les navires, les installations industrielles utilisant de l'eau de mer (circuit eau de mer, échangeurs de chaleur, ...), l'instrumentation océanographique ... Différentes techniques sont disponibles pour lutter contre la fixation des salissures : moyens chimiques, moyens physiques, modification des propriétés de surface des matériaux, méthodes biologiques, dépendantes de la structure à protéger. Malheureusement, les techniques anti-salissures et en particulier les procédés chimiques employés sont bien souvent toxiques vis à vis de l'environnement marin. Par la suite quelques moyens de lutte contre les salissures marines employées ou à l'étude à l'IFREMER seront développés.

Ces dernières années, l'IFREMER a entrepris de développer un système de surveillance automatisée de l'environnement marin, en particulier sur les zones côtières. Les réseaux sont composés de stations littorales (bouées, pylônes, pontons flottants instrumentés) permettant la mesure des paramètres généraux de la qualité de l'eau, tels que pH, oxygène dissous, salinité, température de l'eau de mer, turbidité, vitesse du courant... Les développements technologiques concernant les capteurs physico-chimiques permettent désormais d'envisager la réalisation de stations instrumentées autonomes, effectuant des mesures à fréquence élevée par rapport aux techniques de prélèvements actuelles, et rapidement disponibles pour les utilisateurs. Les interventions humaines prévues sont restreintes et limitées à un contrôle tous les deux mois. Le problème de contrôle du développement d'un biofilm sur les capteurs devient donc primordial. Un chlorateur permettant la production de chlore par électrolyse de l'eau de mer installé à l'entrée de la cellule de mesure a permis de résoudre ce problème. La fréquence de fonctionnement et la quantité de chlore produite sont parfaitement contrôlées. De plus, les crépines installées à l'entrée de l'alimentation en eau de mer de la cellule de mesure sont en cupro-nickel, alliage réduisant la prolifération d'algues et organismes marins pouvant se déposer sur les parois des tubes.

Les peintures antisalissures sont largement utilisées en milieu marin dans la lutte contre les bio-salissures. Elles agissent la plupart du temps par relargage de produits toxiques incorporés dans un liant, et certaines peintures, notamment à base de dérivés organiques de l'étain (ou organostanniques) se sont révélées extrêmement toxiques pour l'environnement marin. La présence de quelques nanogrammes de Tributylétain dans un litre d'eau de mer suffit à rendre stériles certains gastéropodes, à provoquer la formation de chambres dans les coquilles d'huîtres et à limiter leur croissance [34]. Depuis les années 80, l'utilisation de peintures antisalissures contenant du Tributylétain (TBT) est interdite dans la plupart des pays sur tous les bateaux d'une longueur inférieure à 25 m, leur vente et conditionnement sont contrôlés. Ceci a permis de restaurer la production et la qualité des huîtres même dans les secteurs les plus pollués. Suite à ces réglementations sévères et face au souci de protection de l'environnement, de nombreuses recherches sont actuellement menées sur le développement de molécules à caractère biocide mais non nocif pour le milieu marin. Ainsi, le projet européen CAMELLIA, (Environmentally Compatible Antifouling Coatings for the Protection of Ships, Water Systems, Fish cages and other Immersed Structure against Aquatic Growth) financé par la communauté européenne, devrait permettre le développement de nouveaux revêtements ayant de faibles impacts sur l'environnement, et de protéger les bateaux et structures marines des salissures. L'efficacité vis à vis de l'inhibition du développement de salissures marines est recherchée pour ces nouvelles peintures mais leur non toxicité vis à vis de l'environnement est également vérifiée à travers divers bioessais pratiqués en milieu marin. Parallèlement, de nombreuses études sont menées concernant des revêtements antisalissures sans incorporation de biocides basés sur la technologie des élastomères au silicone.

Différentes techniques sont envisagées afin de réduire le développement d'un biofilm sur des surfaces optiques et sont actuellement en cours d'évaluation :

- des stratégies chimiques avec relargage de produits biocides,
- des stratégies chimiques avec production de chlore par électrolyse de l'eau de mer directement sur les verres rendus conducteurs ou à l'aide d'électrodes en matériau inerte installées dans une zone voisine des fenêtres optiques,
- des stratégies physiques telles que l'utilisation des ultrasons, d'irradiations des surfaces aux rayons ultraviolets,
- des modifications de surface avec l'utilisation de verres à formulation spécifique, de revêtements...

Cette liste n'est pas exhaustive et de nombreuses autres techniques [35] sont employées pour réduire la croissance d'un biofilm sur une structure, notamment l'utilisation de biocides dans les échangeurs de chaleur (chlore, ion cuivrique, bactéricides...); malheureusement ces procédés ne sont généralement pas sans conséquence sur la faune et la flore du milieu marin.

## **V. CONCLUSIONS**

Depuis ces dernières années, face au souci de préservation de la faune et de la flore marine, la recherche s'oriente vers la mise au point de moyens de lutte contre les salissures non toxiques vis à vis de l'environnement. Actuellement, aucun matériau ou revêtement antisalissures satisfaisant n'existe, tant du point de vue efficacité qu'impact environnemental; une meilleure compréhension des mécanismes d'adhésion du biofilm pourrait apporter une alternative aux techniques conventionnelles de traitements. Ces études en cours actuellement à l'IFREMER sont complexes, nécessitent des compétences multidisciplinaires : science des matériaux, étude de surface, chimie analytique, chimie physique, biologie...et des techniques d'analyse puissante. Et de lutte contre le développement du biofilm, la recherche dans ce domaine évoluera ainsi plus rapidement vers une meilleure compréhension, un contrôle et une exploitation des processus de formation du biofilm.

## REFERENCES

1. H.C. Flemming, "Biofilms" dans Biodétérioration des matériaux, C. Lemaitre, N. Pébère, D. Festy, (eds.), Les Editions de Physique, Les Ulis, 1998, chapitre 5, pp71-88.
2. K.E. Cooksey, B. Wigglesworth-Cooksey, "Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea : a review", *Aquatic Microbial Ecology*, Vol 9, 1995, pp. 87-96.
3. J.S. Maki, B.J. Little, P. Wagner, R. Mitchell, "Biofilm formation on metal surfaces in Antarctic waters", *Biofouling*, Vol 2, 1990, pp. 27-38
4. R.E. Baier, "Influence of the initial surface condition of materials on bioadhesion" In : *Proceedings of the Third International Congress on Marine Corrosion and Fouling*, National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD: 1972, pp.633-639.
5. R. Neihof, G. Loeb, "Molecular fouling of surfaces in the seawater" in: *Proceedings of the Third International Congress on Marine Corrosion and Fouling*, National Bureau of Standards, Gaithersburg, MD: 710-718, 1972.
6. M. Fletcher and J. H. Pringle, *J. of Colloid and Interface Science*, Vol. 104, N°1, 1985, pp. 5-14.
7. W. A. Zisman, *Adv. Cem. Ser.*, Vol. 43, 1964, pp. 1-51.
8. M. G. Walls, B. Rondot, C.-M. Pradier, D. Costa, P. Marcus, M.-N. Bellon-Fontaine and C. Compère: "A study of the initial stages of biofilm formation on stainless steel immersed in sea water", *Euromat*, 22-24 juillet 1998, Lisbonne, Portugal
9. D. Costa, P. Marcus, M.N. Bellon-Fontaine, B. Rondot, M. Walls, O. Vidal, P. Lejeune, C. Compère, "Surface Chemical composition of a stainless steel immersed in seawater. Evidence of the formation of biofilm", 192nd meeting of The Electrochemical Society, Paris, France, August 31-September 5, 1997.
10. K.C. Marshall, R. Stout, R. Mitchell, *J. Gen. Microbial.*, Vol. 68, 1971, pp. 337-348.
11. M.S. Powell, N.K.H. Slater, *Biotech. Bioeng.*, Vol. 25, 1983, pp.891-900.
12. I.D. Robb, "Stereo-biochemistry and function of polymers", in *Microbial Adhesion and Aggregation (Dahlem Konferenzen)*, (K.C. Marshall Ed., Springer-Verlag, Berlin 1984), p. 39-49.
13. D.C. Ellwood, C.W. Keevil, P.D. Marsh, C.M. Brown, J.N. Wardell, *Phil. Trans. R. Soc. Lon.*, Vol. 297, 1982, pp. 517-532.
14. B.A. Pethica, "Microbial and cell adhesion," in *Microbial Adhesion to Surfaces*, (R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, P.R. Rutter and D. Vincent, Ellis Horwood, Chichester 1980), p.19-45.
15. A.L. Mills, R. Maubrey, *Micro. Ecol.*, 1981, pp.315-322.
16. P. Fera, Thèse Université Bretagne Occidentale, "Etude expérimentale de la colonisation par les bactéries de surface immergées en milieu marin", 1985.
17. J. Guezennec, P. Fera, *Rev. Française de l'IFP*, Vol. 42 N°5, 1987, pp.599-617.
18. J. Carson, D. Allsopp, "Composition of fouling bacterial biofilms on submerged materials", *Biodeterioration*, Vol. 5, 1983, pp.291-303.
19. W. Characklis, Marshall, K.C. (eds.), *Biofilms*. John Wiley, New York, 1990.
20. E. L'Hostis, C. Compère, D. Festy, C. Deslouis, and B. Tribollet, "Characterization of Biofilms Formed on Gold in Natural Seawater by Oxygen Diffusion Analysis", *Corrosion*, Vol. 53, N°1, 1997, pp.4-10.
21. D. Herbert, E. L'Hostis, D. Festy, B. Tribollet, "In-Situ Detection and Monitoring of Biofilm Formation", Joint International Meeting, the 192nd Meeting of the Electrochemical Society, Inc. and the 48th Annual Meeting of the International Society for Electrochemistry, Paris, 31 August-5 September 1997
22. J. Guezennec, "Le biofilm et ses conséquences sur le comportement des matériaux en milieu naturel", *Océanis*, Vol. 19, Fascicule 3, 1993, pp.1.

23. R.E. Baier "Early events of micro-biofouling of all transfer equipment", In: Fouling of heat transfer equipment (Somerscales and Knudsen Eds) Hemisphere Publ. Co Washington DC, 1981, pp. 293-304.
24. J. Labeyrie, L. Lemoine, "A data analysis method to estimate heat transfer coefficient for heat exchanger tube", Proc. 2nd Computational Methods and Experimental Measurements" A board liner Queen Elizabeth II, 1984.
25. L. Lemoine, C. Compère, C. Le Gall, J.P. Le Roux, F. Mazeas. "Experimental assessment of the effect of marine fouling on sensors", (MAST project n°MAS2-CT91-0009 Subtask1.6). Report °DITI/GO/MM 95-16, juin 1995, 14 p.
26. J.P.Audouard, C. Compère, N.J.E.Dowling, D.Féron, D.Festy, A.Mollica, T.Rogne, V.Scotto, K.Taxen, D.Thierry, "Effects of marine biofilms on stainless steels- Results from a european exposure program MAS2-CT92-0011, 1995 International Conference on Microbially Influenced Corrosion, May 8-10,1995, New Orleans, Louisiana.
27. J.P.Audouard, C. Compère, N.J.E.Dowling, D.Féron, D.Festy, A.Mollica, T.Rogne, V.Scotto, U. Steinsmo, K.Taxen, D.Thierry, "Effect of marine biofilms on stainless steels: results from a European exposure program", European Workshop on: Seawater corrosion of stainless steels- Mechanisms and Experiences, November 28-29th, 1995, Trondheim, Norway.
28. C. Compère, Le Bozec, N., "Behaviour of stainless steel in natural seawater", The First Stainless Steel Congress in Thailand, December 15-17, 1997, Bangkok, Thailand.
29. Dupont Thèse de doctorat de l'Université de Caen, spécialité microbiologie, Caen, France (25 Octobre 1996)
30. Dexter, "Mechanism of Passivity Breakdown in Seawater", Final Technical Report, Contract N° N00014-90-J-1947, May 1990-December 1995, University of Delaware, Lewes.
31. Videla, H.A. Manual of Biocorrosion, Lewis, Florida, 1996.
32. Heitz, E., Flemming, H.C. and Sand, W. Microbially Influenced Corrosion of Materials, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1996.
33. J.L. Crolet, "Corrosion bactérienne dans l'industrie pétrolière" dans Biodétérioration des matériaux, C. Lemaitre, N. Pébère, D. Festy, (eds.), Les Editions de Physique, Les Ulis, 1998, chapitre 18, pp. 268-280.
34. C. Alzieu, Y. Thibaud, M. Heral, B. Boutier, "Evaluation des risques liés à l'emploi des peintures antisalissures dans les zones conchycoles". Rev. Trav. Inst. Pêches marit. Vol. 44, 1980, pp. 305-348.
35. J. Guezennec, "Prévention de la corrosion induite par les micro-organismes", Océanis, Vol. 19, Fascicule 3, 1993, pp. 33.