

POINT DE REPÈRE

ÉVALUATION DES RISQUES DES FONTAINES DE BIODÉGRADATION DES GRAISSES

► Christine DAVID,
INRS, Département Expertise et conseil technique

Dans l'industrie du dégraissage, les professionnels sont régulièrement confrontés à la recherche de produits ou de technologies de substitution à l'emploi de produits chimiques dangereux. Ces produits utilisés pour éliminer des polluants de toute sorte (hydrocarbures cycliques et linéaires, graisses, peintures) sont de plus en plus souvent remplacés par des technologies mettant en œuvre des micro-organismes. Ces biotechnologies se retrouvent dans de nombreux secteurs, notamment les industries de l'automobile, de la chimie, la dépollution des eaux et des sols... Concernant le secteur de la mécanique, des fontaines de biodégradation des graisses par des micro-organismes ont fait leur apparition pour remplacer les fontaines à solvant. Comment fonctionnent ces fontaines ? Quelle évaluation des risques de ce nouveau procédé industriel peut-on faire ? Telles sont les questions auxquelles seront apportés les premiers éléments de réponse.

LES MICRO-ORGANISMES UTILISÉS EN BIO-DÉGRADATION

Les procédés de biodégradation ou biodépollution utilisent des organismes vivants, le plus souvent des micro-organismes, pour réduire ou éliminer des produits spécifiques. Ces procédés exploitent les capacités naturelles des micro-organismes à dégrader des composés organiques ou inorganiques pour leurs besoins nutritifs et leur croissance [1].

Les micro-organismes sont des êtres vivants microscopiques (de l'ordre du micron - 10^{-6} mètre) généralement unicellulaires (une seule cellule assure toutes les fonctions de nutrition, locomotion, reproduction...). La classification internationale range les micro-organismes de plus en plus finement en classe, ordre, famille, genre et espèce. Les noms de genre et d'espèce sont couramment utilisés pour désigner un micro-organisme, sachant que le nom de genre commence toujours par une majuscule contrairement au nom d'espèce (ex : *Bacillus cereus*, *Pseudomonas fluorescens*).

Les micro-organismes utilisés dans les procédés de biodégradation sont généralement des bactéries ou des champignons.

Les bactéries sont des êtres unicellulaires, dépourvus de noyau et le plus souvent enveloppés d'une paroi. Elles peuvent être en forme de bâtonnet (elles sont alors appelées bacilles) ou de forme ronde (appelées coques). Une coloration inventée par M. Gram en 1884 permet de différencier ces bactéries au microscope : certaines apparaissent en violet (elles sont dites Gram positif), d'autres en rose (Gram négatif). Suite au résultat de la coloration de Gram, les échantillons sont ensemencés sur des milieux de culture spécifiques favorisant le développement des germes. Après généralement 24h dans une étuve, les colonies de bactéries qui ont poussé sur ces milieux subissent une série de tests biochimiques, permettant de les identifier et de leur attribuer leurs noms de genre et d'espèce.

Les champignons, ou mycètes, sont des micro-organismes avec noyau, pouvant être composés d'une cellule (les levures) ou de plusieurs cellules (les moisissures). L'identification des mycètes (l'attribution des noms de genre et d'espèce) passe par l'observation des aspects macroscopique et microscopique des colonies cultivées sur milieu gélosé. Des tests biochimiques supplémentaires sont effectués pour identifier les levures.

Les micro-organismes se trouvent naturellement chez les êtres vivants (le tractus intestinal, la peau, l'oreille externe, le nez...) et dans l'environnement (l'eau, le sol) où ils sont à la base de toutes les chaînes alimentaires. Il est possible de les trouver dans des environnements très variés, voire extrêmes [2] :

- températures allant de -10°C à $+110^{\circ}\text{C}$,
- pH de 0,5 à 11,5,
- milieux saturés en sel comme la Mer Morte,
- pression élevée se trouvant à $-10\ 500\ \text{m}$ de profondeur,
- milieu où la radiation est 1 000 fois supérieure à la dose mortelle pour l'homme [3],
- certains micro-organismes croissent en présence d'oxygène (en aérobie), d'autres en absence complète d'oxygène (en anaérobie).



Copyright Gaët KERBAOL / INRS.

Dégraissage de pièces mécaniques

Leur large répartition s'explique par la diversité de leur métabolisme qui représente l'ensemble des réactions chimiques (catalysées par des enzymes¹) se déroulant en continu dans la cellule et assurant son fonctionnement. Le métabolisme peut se diviser en deux étapes :

- le catabolisme : de grosses molécules sont dégradées en de plus petites par des réactions chimiques produisant de l'énergie ;
- l'anabolisme : d'autres réactions chimiques synthétisent des molécules complexes à partir de molécules plus simples en consommant de l'énergie.

La caractéristique du catabolisme microbien (et son intérêt dans les processus de biodégradation) est la grande diversité des matières dégradées, qui peuvent être organiques aussi bien que minérales. Chez les micro-organismes, une même voie catabolique permet souvent de dégrader plusieurs molécules de même type (par exemple, plusieurs lipides différents) ce qui augmente l'efficacité du métabolisme et les chances de survie de la cellule. À noter que les micro-organismes utilisent souvent les lipides comme source d'énergie, au moyen d'un métabolisme généralement aérobie.

Les procédés industriels de biodégradation s'inspirent des procédés de biodégradation se déroulant dans l'environnement. Il s'agit de prendre les micro-organismes se nourrissant (donc dégradant) naturellement d'un produit

dans la nature et de les adapter à leur nouvel environnement industriel pour qu'ils effectuent les mêmes performances (voire de meilleures).

PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT DES FONTAINES DE BIODÉGRADATION DES GRAISSES

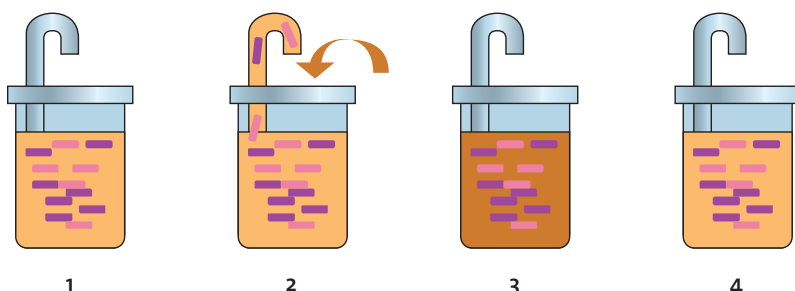
Une seule bactérie ne possède pas toutes les enzymes nécessaires à la dégradation des nombreux produits que l'on souhaite éliminer. Ainsi, dans les fontaines de biodégradation, plusieurs souches bactériennes sont associées afin d'augmenter les possibilités de décomposition d'une variété d'huiles ou de graisses présente sur les pièces mécaniques.

Pour une bonne dégradation d'un produit par les micro-organismes, il faut s'assurer que les souches microbiennes l'utilisent bien dans leur métabolisme et surtout veiller au contact étroit des bactéries avec ce produit qui, dans le cas contraire, ne sera jamais entièrement dégradé. Les bactéries adhérant difficilement aux polluants hydrophobes, les

¹ Molécules protéiques favorisant des réactions biochimiques spécifiques.

FIGURE 1

Différentes étapes de dégradation des graisses par les micro-organismes d'une fontaine



Copyright Gaël KERBAOL / INRS.

Utilisation de fontaines de biodégradation en atelier de maintenance

huiles et les graisses sont peu ou pas dégradées. La solution consiste donc à associer des tensioactifs aux micro-organismes et/ou à sélectionner des bactéries produisant des biotensioactifs.

En effet, certaines bactéries ont la capacité de synthétiser des tensioactifs qui émulsionnent les hydrocarbures en micro-gouttelettes plus rapidement assimilables. Ce tensioactif est un métabolite² polymère résultant de la transformation d'un produit organique [4]. Les tensioactifs biologiques ont l'avantage d'avoir un faible poids moléculaire (généralement inférieur à 1,5 kDa³) leur permettant une bonne diffusion et une structure chimique variable leur permettant de dégrader différents produits [5]. De plus, des chercheurs ont montré, que lors de la dégradation du gazole sur colonne de sable, certains tensioactifs biologiques peuvent être jusqu'à 1,5 fois plus efficaces que le tensioactif synthé-

tique le plus actif. L'intérêt supplémentaire des tensioactifs biologiques réside dans leur bonne biodégradabilité [6]. Les bactéries productrices de tensioactifs constituent une proportion importante (plus de 35 %) des bactéries aérobies dégradant les molécules organiques [6]. Les souches les plus étudiées pour leur capacité à produire des tensioactifs et à dégrader les hydrocarbures sont les *Bacillus licheniformis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus sphaericus* et *Pseudomonas fluorescens* [7].

Les fontaines de biodégradation des graisses font intervenir des souches bactériennes capables de dégrader les hydrocarbures et de synthétiser des biotensioactifs. De plus, ces souches sont mises en suspension dans une solution aqueuse de tensioactif. Le fabricant choisit judicieusement le couple micro-organismes / milieu, de façon à ce que chacun soit adapté à l'autre.

Les micro-organismes sont choisis en fonction de leur capacité à :

- dégrader les graisses et les huiles,
- pousser dans le milieu créé (bactéries résistantes aux tensioactifs),
- survivre dans le milieu de conservation avant ensemencement,
- croître à partir d'un faible inoculum⁴.

Le milieu de culture doit :

- être favorable à la survie des micro-organismes (faible agressivité du tensioactif),
- contenir des éléments nutritifs complémentaires à ceux obtenus par la dégradation des graisses ou des huiles (azote, phosphore, potassium, fer),
- être exempt de produits toxiques pour les micro-organismes (dérivés phénoliques, métaux lourds, solvants...),
- présenter une bonne oxygénation permettant le métabolisme aérobie de biodégradation,

- être à une température optimale pour la croissance des micro-organismes.

Une fois la fontaine ensemencée par des micro-organismes (cf. Figure 1-1), le mélange bactéries-tensioactif est contenu dans la cuve qui est en permanence oxygénée (pour assurer un métabolisme aérobie) et maintenue autour de 37°C (température optimale de développement des bactéries utilisées dans ces procédés). Lors de l'utilisation de la fontaine, le mélange bactéries-tensioactif est aspiré dans un tuyau aboutissant à une brosse (cf. Figure 1-2). Le tensioactif met les graisses en suspension lors du brossage de la pièce. Le mélange graisse-bactéries-tensioactif tombe ensuite dans la cuve (cf. Figure 1-3) où la graisse est dégradée progressivement par les micro-organismes (cf. Figure 1-4).

ÉVALUATION DES RISQUES

Il convient d'évaluer les risques encourus par les utilisateurs de ces fontaines de dégraissage. Pour cela, il faut étudier les risques chimiques pouvant être engendrés par les tensioactifs, les graisses et les huiles, ainsi que les risques biologiques potentiellement engendrés par les micro-organismes.

L'évaluation des risques chimiques ne sera pas détaillée ici, mais rappelons qu'elle se fait à l'aide de la fiche de données de sécurité fournie avec le produit. Cette fiche donne des indications sur la dangerosité des tensioactifs et les mesures de prévention à suivre lors de l'utilisation du produit.

De leur côté, les graisses et les huiles peuvent entraîner des affections cutanées pouvant prendre différentes formes, telles que des dermatites irritatives ou des lésions eczématiformes (les affections provoquées par les huiles et graisses d'origine minérale ou de synthèse sont retrouvées dans le tableau des maladies professionnelles n° 36 du régime général de la Sécurité Sociale).

² Produit formé au cours du métabolisme cellulaire.

³ kDa = kilodalton.

⁴ Culture de micro-organismes de volume réduit servant à ensemencer un milieu pour faire démarrer une culture de volume plus important.

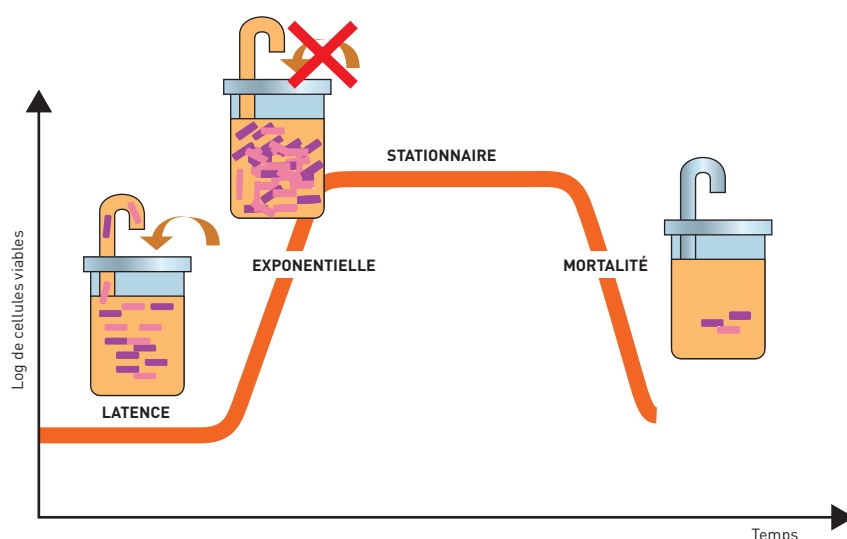
TABEAU 1

Classement des agents biologiques en groupe de risque infectieux

	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Susceptible de provoquer une maladie chez l'homme	non	oui	maladie grave	maladie grave
Constitue un danger pour les travailleurs	-	oui	sérieux	sérieux
Propagation dans la collectivité	-	peu probable	possible	risque élevé
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace	-	oui	oui	non

FIGURE 2

Courbe de croissance théorique des micro-organismes dans une fontaine de dégraissage



Associées aux produits chimiques, certaines bactéries utilisées dans les fontaines de biodégradation pourraient présenter un risque biologique pour les travailleurs. L'évaluation de ce risque se fait en estimant les dangers représentés par les micro-organismes et la probabilité que l'opérateur y soit exposé.

IDENTIFICATION DES DANGERS

Il est important d'identifier le danger potentiel des souches utilisées dans les fontaines de dégraissage, commercialisées essentiellement dans les ateliers de maintenance. Or, l'utilisateur ne connaît pas toujours la composition exacte de la solution bactérienne qu'il utilise, encore moins le danger potentiel de chaque souche.

En effet, il n'existe aucune réglementation relative à la mise sur le marché de micro-organismes utilisés en milieu industriel. Il n'existe donc aucune obligation pour le fabricant de fournir un dossier sur les dangers potentiels de chaque micro-organisme commercialisé. Afin de mener son évaluation des risques, l'utilisateur doit pourtant disposer des informations suivantes :

- l'identité précise des souches microbiennes entrant dans le procédé,
- le pouvoir pathogène potentiel de chaque agent biologique,
- la dose infectieuse de chaque agent pathogène,
- la concentration bactérienne atteinte dans le procédé,
- la voie de pénétration de l'agent pathogène dans l'organisme (digestive, cutanéomuqueuse, respiratoire).

L'utilisateur peut se tourner vers son fournisseur pour obtenir ces informations. Or, tous les fabricants ne sont pas en mesure de les donner.

Pouvoirs pathogènes des micro-organismes

Les micro-organismes peuvent entraîner différentes pathologies chez l'homme :

- une infection, due à l'entrée, puis à la multiplication d'un micro-organisme dans le corps,
- une intoxication, entraînée par la seule présence d'une toxine produite par un micro-organisme,
- une allergie ou hypersensibilité, qui est une réaction de défense immunitaire trop importante.

Le code du travail classe les agents biologiques infectieux en quatre groupes en fonction de leur pouvoir infectieux croissant (art. 231-61-1, cf. *Tableau 1*). La liste des agents biologiques des groupes 2, 3 et 4 est fixée par l'arrêté du 18 juillet 1994 modifié [8]. Aucune liste n'est donnée pour le groupe 1 des agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme. Le groupe 4 ne contient que des virus responsables de fièvres hémorragiques ou de varioles, qui ne sont évidemment jamais utilisés dans des procédés industriels.

La première étape de l'évaluation du danger consiste à s'assurer que les fontaines n'utilisent aucun agent des groupes de risque infectieux 2 ou 3. Toutefois, un micro-organisme ne se trouvant pas dans la liste correspondant à l'un de ces groupes n'est pas automatiquement classé dans le groupe 1 des agents non pathogènes.

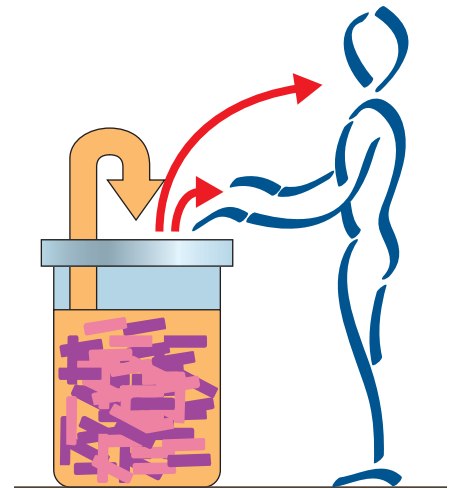
En effet, il convient de rechercher également si l'agent biologique peut entraîner des intoxications ou des allergies. À défaut de dossier d'études du pouvoir pathogène des micro-organismes, il est possible d'effectuer cette évaluation par une analyse de la littérature scientifique. Celle-ci rapporte principalement des cas de maladies observées en milieu hospitalier, chez des personnes immunitairement affaiblies, exposées à des procédés invasifs contaminés (sonde, drain, appareil respiratoire...). Ces articles ne reflètent pas l'utilisation du procédé biotechnologique en entreprise : ils ne tiennent pas compte de l'état de santé des travailleurs ni de l'exposition réelle des utilisateurs en milieu industriel.



Copyright Gaël KERBAOL / INRS.

FIGURE 3

Exposition d'un utilisateur de fontaine



Une étude bibliographique, effectuée sur certains germes connus pour dégrader les graisses (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis* [7]), a permis de montrer que ces derniers peuvent entraîner des intoxications alimentaires lorsqu'ils sont ingérés à de fortes concentrations (10^5 à 10^9 bactéries/g). En effet, ces bacilles ont la capacité de sécréter des toxines pouvant entraîner des diarrhées et/ou des vomissements.

D'autres bactéries peuvent s'avérer opportunistes. Il s'agit de germes habituellement non pathogènes chez une personne saine, mais qui peuvent le devenir suite à une baisse des défenses immunitaires. Des articles scientifiques ont montré que des personnes immunodéprimées pouvaient développer des infections des plaies, des peaux lésées ou des yeux lors de contacts cutané-muqueux avec des bactéries présentes également dans certaines fontaines.

Concentrations des micro-organismes dans les fontaines

Il est souvent difficile de connaître la dose infectieuse des agents biologiques qui n'est pas établie pour tous les micro-organismes. Toutefois, il est possible d'estimer que le danger biologique croît avec la concentration bactérienne. Or, la croissance bactérienne dépend de l'apport nutritif. C'est ainsi que, plus la fontaine fonctionne, plus il y a de graisse servant d'aliment aux micro-organismes et plus la flore augmente.

La courbe de croissance théorique des micro-organismes dans un milieu de culture clos, fait apparaître quatre phases de croissance (cf. Figure 2).

La première phase s'observe au moment de l'ensemencement du milieu : aucune croissance bactérienne n'apparaît pendant cette phase de latence lors de laquelle les micro-organismes s'adaptent au milieu.

Une fois adaptés, et s'il y a un apport suffisant d'aliments (ici, de graisses ou d'huiles), les micro-organismes croissent de façon exponentielle. La concentration peut atteindre, d'après certains fabricants de fontaine, 10^6 - 10^9 bactéries/ml.

Sans apport régulier d'aliments, les micro-organismes épuisent leur milieu et cessent de croître. Cette phase stationnaire (à un niveau de concentration variable) peut être atteinte dans les fontaines peu utilisées : les micro-organismes consommeront toutes les graisses sans en avoir suffisamment pour croître davantage.

Si cette privation de nourriture persiste, les bactéries vont rapidement décliner et disparaître. Cette phase de mortalité est atteinte si la fontaine n'est pas régulièrement utilisée.

La concentration des bactéries dépend de l'usage que l'on fait de la fontaine.

Contamination des fontaines

Le risque de contamination des fontaines par des germes pathogènes présents dans l'environnement reste une question en suspens.

De façon théorique, si l'onensemence un nouveau milieu avec plusieurs souches bactériennes, on s'apercevra que la bactérie la mieux adaptée va conquérir le milieu au détriment des autres. Une fois le milieu colonisé par les millions de bactéries initialement ensemencées dans la fontaine, un micro-organisme extérieur aura des difficultés à se développer. Pour cela, il faudrait que ce micro-organisme se nourrisse des graisses présentes, résiste aux tensioactifs et soit encore mieux adapté que les souches déjà présentes en masse.

EXPOSITION DES OPÉRATEURS

Lors de l'utilisation des fontaines de biodégradation des graisses, les opérateurs peuvent être exposés de nombreuses façons (cf. Figure 3) :

- un contact cutané avec les graisses et le mélange bactéries-tensioactif (prise en main des pièces grasses lors du nettoyage),
- des projections de graisse et de mélange bactéries-tensioactif vers les muqueuses du visage (brossage des pièces),
- l'ingestion accidentelle de graisse et de mélange bactéries-tensioactif en portant les mains souillées à la bouche.

Si les micro-organismes de la fontaine présentent un quelconque danger et peuvent pénétrer l'organisme par ces voies d'exposition, il y a alors un risque biologique.

MESURES DE PRÉVENTION

Il convient de mettre en place des mesures de prévention vis-à-vis des risques biologique et chimique.

Les mesures de prévention du risque biologique doivent tenir compte du type d'agent biologique identifié dans la fontaine. Les mesures de prévention consistent à protéger les voies de pénétration (digestive, cutanéomuqueuse) identifiées pour chaque agent biologique pouvant présenter un risque.

Les risques de contamination par voie digestive peuvent se prévenir simplement par le respect des mesures d'hygiène : lavage des mains en cas de contact avec des objets souillés, lavage des mains systématique avant la pause pour manger ou boire.

Les affections cutanées, engendrées par les produits chimiques peuvent être évitées par le port de tenues de travail couvrantes et de gants résistants aux produits et aux travaux réalisés.

Les muqueuses oculaires peuvent être préservées des projections de produits chimiques par le port de lunettes de protection.

Le médecin du travail portera une attention particulière aux personnes immunodéprimées, plus sensibles aux agents biologiques.

PERSPECTIVES

En l'absence de réglementation spécifique à la mise sur le marché de micro-organismes utilisés dans le milieu industriel, la cession des produits utilisés en biotechnologie doit se faire sous condition de la responsabilité de droit commun. Il appartient donc au fabricant de donner à l'utilisateur l'ensemble des informations appropriées à l'utilisation des produits en toute sécurité. À l'heure actuelle, peu de fabricants communiquent spontanément la liste des micro-organismes entrant dans leur procédé biotechnologique. Et quand bien même cette liste serait fournie, une évaluation des risques biologiques par l'utilisateur reste difficile et ne peut être entièrement satisfaisante, du fait de la difficulté de transposer au milieu industriel des données épidémiologiques observées en milieu hospitalier.

Un dossier complet, donnant, pour chaque micro-organisme, les résultats de tests de pathogénicité, présenterait la meilleure des garanties. Le contenu de cette étude pourrait s'inspirer des réglementations existantes pour les biocides ou les produits phytopharmaceutiques contenant des micro-organismes [9]. Ainsi, le dossier d'évaluation du produit devrait notamment contenir, pour chaque souche, les informations suivantes :

IDENTIFICATION DU MICRO-ORGANISME

■ Fournir l'identité complète de chaque agent : les noms de famille, de genre, d'espèce, la souche, le sérotype, le pathovar, le numéro de dépôt auprès d'une banque de collection de micro-organismes ;

■ donner les procédures d'identification de la souche ;

■ indiquer s'il s'agit d'une souche sauvage, d'un mutant spontané ou d'un mutant obtenu par génie génétique ;

■ indiquer toute parenté avec des pathogènes connus ;

■ indiquer les régions géographiques et les écosystèmes (plantes, animaux, sol...) où le micro-organisme peut être trouvé naturellement ;

■ indiquer le cycle de vie du micro-organisme, le temps de génération, le type de reproduction, les éventuelles phases de repos, de sporulation, la durée de vie.

UTILISATION DU MICRO-ORGANISME

■ Présenter l'historique du micro-organisme et ses utilisations ;

■ indiquer la voie métabolique suivie par le micro-organisme dans le procédé de biodégradation et les métabolites engendrés en fonction des produits dégradés.

MÉTHODES DE PRODUCTION

■ Fournir les méthodes de production du micro-organisme et les procédures assurant la qualité de la production ;

■ donner la concentration minimale, maximale et nominale du micro-organisme dans le matériel servant à la fabrication du produit formulé ;

■ donner la teneur minimale, maximale et nominale des micro-organismes dans le produit formulé ;

■ fournir l'identité et la teneur des impuretés, ainsi que les méthodes permettant de les identifier ;

■ fournir les résultats des études sur la contamination possible du produit en cours d'utilisation.

PATHOGÉNICITÉ SUR L'HOMME, L'ANIMAL ET L'ENVIRONNEMENT

■ Fournir toutes les informations disponibles concernant la pathogénicité (infection, intoxication, allergie) des micro-organismes, des impuretés ou des métabolites sur les humains (y compris les sujets immunodéprimés), les animaux et l'environnement ;

■ évaluer l'exposition du personnel utilisant le produit ;

■ indiquer les risques pour les personnes exposées au produit lors de son utilisation.

MÉTHODES DE PRÉVENTION

■ Indiquer les mesures de prévention devant être suivies par les utilisateurs du produit pour se préserver des risques biologiques identifiés ;

■ donner les procédures permettant de détruire les micro-organismes ;

■ fournir les mesures à suivre en cas d'accident ;

■ indiquer la procédure d'élimination du produit après usage.

Étant donné la mondialisation des biotechnologies utilisées en industrie, il serait utile de préciser, en particulier par voie réglementaire, les protocoles de mise sur le marché de ces produits. Cette réglementation pourrait s'inspirer notamment des directives européennes relatives aux biocides ou aux produits phytopharmaceutiques contenant des micro-organismes. Cela permettrait notamment la création de fiches de données de sécurité sur les agents biologiques, outil important de communication en prévention. Ces fiches fourniraient toutes les informations sur les risques biologiques et les mesures de prévention. Le chef d'entreprise pourrait ainsi utiliser les nouvelles biotechnologies avec une meilleure connaissance des risques, lui permettant de mettre en place les mesures adaptées de protection des opérateurs.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] BRASSEUR G. (2005) : Biotechnologies : des bactéries "mange graisse" dans l'industrie. Travail et Sécurité, vol. 652.
- [2] PRESCOTT, HARLEY, KLEIN (2002) : Microbiologie. Ed : De Boeck Université. 1014 pp.
- [3] LIBERT MARIE (2000) : Resistant bacteria. Clefs CEA, n° 43.
- [4] WANG S.-Y et VIPULANANDAN C. (1998) : Enhancing TCE solubility by biosurfactant produced from used vegetable oil. (cigmat.cive.uh.edu/content/conf_exhib/00_poster/10.htm).
- [5] MILLER R. M. (1998) : Biosurfactant-facilitated remediation of metal-contaminated soils. Environ Health Perspect, 103 : 59-62.
- [6] CANNY G. et BROADERS M. (1999) : Clean up of oil spillages using biosurfactant. The Irish Scientist (www.irishscientist.com/p99b.htm).
- [7] JENNINGS E. M. et TANNER R. S. (2000) : Biosurfactant-producing bacteria found in contaminated and uncontaminated soils. Proceedings of the 2000 Conference on Hazardous Waste Research.
- [8] Classement des agents biologiques. Documents pour le Médecin du Travail, 79 TO.
- [9] Directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991, concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. JO n° L230 du 19/08/1991, transposée en droit français par le décret n°94-359 du 5 mai 1994 relatif au contrôle des produits phytopharmaceutiques. JO n°106 du 7 mai 1994.