

Dépollution par **biotechnologie génétique** : La bio-atténuation naturelle dynamisée (Band)

Ne pas utiliser les capacités de dépollution naturelles du « bio-réacteur naturel » d'un site est un gaspillage des moyens financiers à éviter. Au moins une partie, voire l'ensemble d'une dépollution contre les hydrocarbures (aliphatiques, BTEX, HAP), phénols, solvants chlorés etc. peut être traitée par la Band. Pour une telle application il faut comprendre et renforcer l'activité du « bio-réacteur naturel » : le sous-sol même du site.

PAR LE DR. FRANK KARG
DIRECTEUR SCIENTIFIQUE DU GROUPE HPC
DIRECTEUR GÉNÉRAL HPC ENVIROTEC S.A.

Les traitements microbiologiques *in situ* (sans excavations ou pompes) des sols / sédiments et eaux pollués (terrestres et marins) étaient jusqu'à présent des aventures hasardeuses lorsqu'ils étaient appliqués à d'autres polluants que les hydrocarbures aliphatiques (comme les HAP, PCB, solvants chlorés ou produits organo-nitrés, etc...), qu'il s'agisse de simple percolation de nutriments en sous-sol et dans les eaux avec des réussites plutôt médiocres, ou d'injection de souches bactériennes cultivées, le plus souvent sans grand résultat.

Depuis deux ans de nouvelles procédures de traitement microbiologique *in situ* des polluants organiques ont été mises en place par la dépollution via la bio-atténuation naturelle dynamisée (Band), c'est à dire l'accélération de la bio-dégradation naturelle des polluants. Celle-ci repose sur l'utilisation de la PCR (Polymerase Chain Reaction).

En fait, toutes les investigations et applications de micro-organismes cultivées ne peuvent pas représenter plus de 10 à 15 % du total de la micro-flore d'un sous-sol, les 85 à 90 % des micro-organismes présents dans

l'environnement n'étant pas cultivables en laboratoire.

Or c'est parmi ces derniers que l'on trouve les micro-organismes les mieux adaptés aux conditions environnementales (hydrochimie, géologie, géochimie, minéralogie etc) et aux pollutions, ce qui incite donc à utiliser d'autres moyens que l'application des souches cultivables en laboratoire. Les solutions applicables existent sous forme de biotechnologie génétique. Il ne s'agit plus de rechercher des souches individuelles de bactéries pour les cultiver et les utiliser, mais plutôt de s'intéresser à leur patrimoine génétique.

L'idée est de quantifier le patrimoine génétique microbiologique d'un environnement pollué. L'application de la PCR permet de déterminer les parties de l'ADN (acide désoxyribonucléique) des micro-organismes responsables de la formation des enzymes capables de détruire une molécule polluante^(1 à 5).

La combinaison de la PCR avec d'autres tests en laboratoire sur des échantillons de biomasse, de sols et eaux polluées, permet d'identifier des meilleures conditions de traitement microbiologique par

Band⁽⁶⁾. La Band peut être appliquée pour l'étude de faisabilité de dépollution d'un site ou remplacer une grande partie d'un traitement actif (par pompage ou excavation etc...) contre cette méthode douce. L'application de la PCR demande des équipements conséquents en laboratoire, plutôt typiques de la médecine biochimique génétique. Deux laboratoires de ce type ont été équipés ; un à Düsseldorf en Allemagne et un en Normandie (grâce, entre autres, à des subven-



ATE

tions régionales et européennes) en partenariat entre un service de biochimie de la Faculté de médecine d'une université et les sociétés HPC Envirotec en France et Planreal en Suisse (1 à 5).

L'application de cette technologie, dans le cadre d'une étude de faisabilité technico-économique de dépollution par Band d'un site pollué, nécessite la combinaison de toute une batterie d'analyses et de tests bio-géochimiques, microbiologiques et écotoxicologiques afin de déterminer les meilleures conditions d'un traitement Band. Cette étude de faisabilité technico-économique de la mise en œuvre de la Band est aussi appelée Bio-Restoration Protocol.

L'application de la Band permet d'économiser des millions d'euros lors de la réhabilitation d'un site pollué, car elle remplace partiellement ou complètement des traitements actifs comme l'excavation et traitement des sols, le pompage et traitement des eaux souterraines etc...

Les polluants pour lesquels cette technologie est actuellement applicable, sont les hydrocarbures aliphatiques⁽⁷⁾, les HAP (hydrocarbures aromatiques polycycliques)⁽⁷⁾, BTEX (hydrocarbures monoaromatiques)⁽⁷⁾, solvants chlorés^(8,9), PCB (polychlorobiphényles)⁽¹⁰⁾, produits nitrés^(11 à 15) et amines⁽¹⁶⁾. D'autres produits sont à l'étude et pourront être traités par cette technologie dans les 3 à 5 ans.

Dans tous les cas la non-utilisation de la capacité naturelle de dépollution du sous-sol d'un site conduit à un gaspillage. Si elles sont nécessaires, les mesures de dépollution actives complémentaires, seront beaucoup moins onéreuses, que si elles sont lancées *a priori*.

Le Biorestitution Protocol

Le Biorestitution Protocol a pour objectif de déterminer les conditions d'application des techniques de traitements les plus « soft » possibles et les moins onéreuses comme la Band.

Les étapes de l'étude de faisabilité sont les suivantes :

La première étape consiste en la réalisation au laboratoire d'une batterie de tests spécifiques aux milieux physico-chimiques et microbiologiques du site pollué par des produits organiques (hydrocarbures aliphatiques, aromatiques, solvants chlorés, etc.).

Suite à la réalisation de tests, des réponses aux questions suivantes seront trouvées :

- Existe-t-il en sous-sol du site des micro-organismes capables de détruire les pol-

LA PCR : POLYMERASE CHAIN REACTION

La technologie de la Polymerase Chain Reaction a bouleversé le monde de la biochimie et de la biotechnologie moléculaire ; elle est utilisée par exemple pour le dépistage des maladies (détection des virus qui se cachent dans le génome). La PCR est très sensible, par ex. 1µg d'ADN génomique mutagène introduit dans un bassin de 2 millions de litres peut être détecté par la PCR (soit 0,5 pico-g/l).

Aujourd'hui la PCR est quasiment le seul moyen de prouver une dégradation naturelle des polluants par des micro-organismes (excepté quelques applications de la fracturation de certains isotopes), surtout dans le cas de formation des métabolites difficilement détectables. Ceci est très important pour écarter le phénomène d'atténuation naturelle du seul fait d'une dilution dans les eaux souterraines.

La réaction biochimique de la PCR permet l'amplification des séquences d'ADN utilisant des « primers-amorces » qui sont spécifiques pour un gène (dans notre cas celui responsable pour la production des enzymes de dégradation des polluants). La réaction biochimique se réalise en 3 parties : par exemple l'ADN à double brin est dénaturé à 95°C, les amorces se fixent à 55 °C puis l'ADN est synthétisé à 72°C. Ce cycle microbiologique est répété entre 30 et 40 fois.

L'application de la PCR permet une amplification sélective des régions spécifiques d'un ADN, c'est à dire des séquences d'ADN recherchées (par exemple dans notre cas pour la recherche des séquences correspondantes à la production des enzymes de dégradation des polluants). De courtes séquences d'ADN synthétiques complémentaires à ces régions spécifiques sont ajoutées à l'ADN extrait. Si les séquences spécifiques recherchées sont présentes (comme celles responsables pour la production des enzymes de dégradation des polluants), deux nouveaux brins d'ADN seront créés.

La répétition en chaîne de la dénaturation et polymérisation d'ADN provoque une amplification exponentielle des séquences recherchées. Après 30 cycles d'amplification, plus d'un million de copies de la séquence spécifique recherchée sont synthétisées.

Ensuite les séquences amplifiées d'ADN sont détectées par l'électrophorèse sur gel. Le résultat d'un test est considéré positif lorsque l'ADN d'une séquence recherchée est détecté. Dans ce cas la présence des micro-organismes capables de dégrader les polluants à été prouvée dans des échantillons d'eaux ou des sols d'un site pollué. Ceci est appliqué de façon sélective pour les différents polluants pour lesquels des « primers-amorces » spécifiques sont utilisés pour trouver les séquences d'ADN correspondantes. **FK**

luants ?

- Quel est le pouvoir actuel de dégradation ?
- Un traitement actif microbiologique est-il nécessaire ?
- Quels sont les facteurs inhibiteurs pour la dégradation microbiologique sur site ?
- Quel est le degré optimal de dégradation microbiologique réalisable sur le site ?
- La dégradation microbiologique *in situ* est-elle une option valable sur le site ?
- Comment et avec quels moyens, la dégradation microbiologique *in situ* peut-elle être effectuée sur le site ?

Les tests appliqués ont pour objectif de déterminer la faisabilité de la ou des techniques les plus économiques applicables sur le site parmi les suivantes :

- Bio-atténuation naturelle contrôlée (Banc)
- Bio-atténuation naturelle dynamisée (Band)
- Traitement microbiologique *in situ*
- Traitement microbiologique *On-site*
- Traitement *Off-site*

- Traitement par des techniques combinées
- Les tests effectués sont basés sur des méthodes écotoxicologiques, microbiologiques, bio-géochimiques, et bien entendu sur des méthodes biotechnologiques génétiques (comme la PCR), etc. ..

La deuxième étape consiste en l'exploitation de données spécifiques au site (obtenues par les tests de la première étape) afin d'effectuer des simulations par le BPCM (Biorestitution Protocol Computer Model). Le résultat en est la définition de la faisabilité des techniques diverses de Bio-restauration.

Origine du Biorestitution Protocol

Le Biorestitution Protocol a été élaboré par le projet de recherche Orlando⁽⁵⁾, effectué conjointement par :

- ICI Paints (Grande Bretagne - U.S.A. - Allemagne),
- HPC Group (France - Allemagne),
- RMIT - University (Australie),
- Kings College- Université de Londres

Dépollution des sols

(Grande Bretagne),
– Planreal (Suisse).

L'objectif initial de son application était, dans un premier temps, la réhabilitation des sites du groupe ICI (pollués par des hydrocarbures aliphatiques, des BTEX, des HAP, des solvants chlorés) et par la suite d'autres sites similaires.

Imperial Chemical Industries (ICI), en tant qu'industriel, possède des milliers de sites, et a souhaité développer un outil d'investigations afin d'examiner les possibilités d'application de l'atténuation naturelle dynamisée, l'objectif sous-tendu étant de valoriser le plus possible son patrimoine immobilier. Le Biorestauration Protocol comme l'EDR⁽¹⁸⁻²⁵⁾ (évaluation détaillée des risques) est devenu un outil d'aide à la gestion immobilière déjà appliqué par ICI sur de nombreux sites comme à Toronto (Canada), Hilden (Allemagne), Valenciennes (France), Sao Paolo (Brésil), etc. ainsi que pour la dépollution douce des contaminations générales organiques en environnement.

À l'origine l'équipe du Professeur **Mason** du Kings College (Université de Londres) a recherché les séquences d'ADN des micro-organismes responsables de la production d'enzymes capables de détruire les polluants. Ceci a permis d'appliquer la biotechnologie génétique pour la recherche des séquences ADN des micro-organismes d'un site via la PCR. Cette technologie est maintenant appliquée en routine sur les sites pollués des groupes d'industrie chimique ICI et Ruetgers Chemicals. Des applications sur d'autres sites pollués ont débuté pour les groupes Total et Bosch.

Une équipe de l'Université RMIT de Melbourne a regroupé l'ensemble des tests biotechnologiques spécifiques aux sites pollués et a élaboré avec HPC et Planreal un modèle informatique de simulation des scénarii de réhabilitation basé sur les tests spécifiques du bio-restoration protocol. Il s'agit du BPCM : Bio-Restauration Protocol Computer Model, qui est aujourd'hui appliqué en Europe, en Asie et sur le continent Américain.

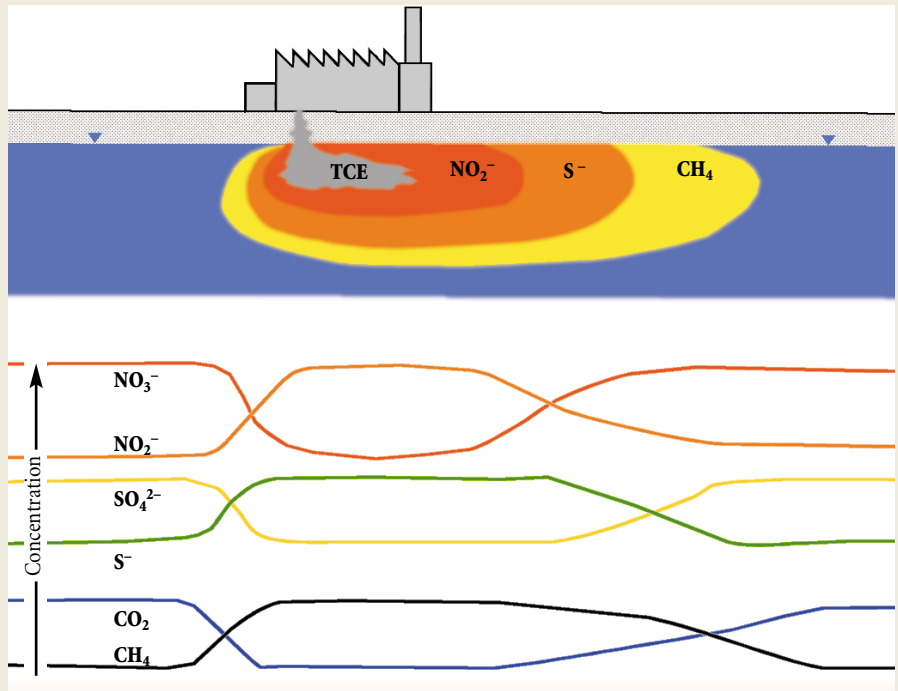


Figure 1 : Exemple d'une pollution de la nappe phréatique par le TCE (Trichloréthylène) et zonage des paramètres bio-géochimiques des accepteurs d'électrons utilisés par des microorganismes de dégradation des polluants.

La démarche du Biorestauration Protocol

Décrire la totalité du Biorestauration Protocol est impossible en quelques pages. Néanmoins, les étapes suivantes décrivent ses principes d'application⁽¹⁾ sur le « réacteur naturel » présent sur un site pollué :

Prélèvements des sédiments, des eaux ou des sols sur le site

Pour une application du Biorestauration Protocol sur les sols et les eaux, des prélèvements sont nécessaires sur les sites pollués. Des « frogs » (préleveurs passifs spécifiques permettant la colonisation par des micro-organismes d'un site sous forme de biomasse) sont mis en place pendant 3 à 4 semaines dans des puits ou piézomètres. Ensuite les analyses génétiques et microbiologiques (PCR etc.) pourront être réalisées sur la bio-

masse des eaux souterraines ou le sol du site.

Tests génétiques par PCR

Les analyses par PCR sur la biomasse prélevée servent à quantifier le potentiel génétique microbiologique de dégradation des polluants sur site. La PCR nécessite une bonne connaissance des séquences d'ADN pour les enzymes spécifiques aux divers polluants. Il s'agit d'un savoir-faire qui n'est pas facilement divulgué par les laboratoires.

Tests de minéralisation

Les tests de minéralisation sont effectués pour quantifier la métabolisation réelle par les micro-organismes. Une minéralisation totale est effectuée quand l'ensemble des polluants organiques est transformé en CO₂ (en milieu aérobie) ou CH₄ (en milieu anaérobie). Les tests sont effectués par l'application des polluants d'intérêt ayant un marquage

– SITES POLLUÉS –

Spécialiste des solutions relatives au domaine des sites pollués en Europe et Outre-Mer (72 agences) afin de répondre aux attentes des collectivités, des industriels et des sociétés immobilières.

Nos services incluent :

- Investigations et Évaluation Simplifiée des Risques (ESR)
- Évaluations Détaillées des Risques (EDR),
- Dépollution et toute ingénierie nécessaire.

Contact : Dr Frank Karg
Tél. : 02 99 13 14 51
Fax : 02 99 13 14 50
E-mail : hpc.france@wanadoo.fr

HPC ENVIROTEC

Dépollution des sols

radioactif C^{14} et mesure par scintillation des isotopes $C^{14}O_2$ ou $C^{14}H_4$, $C^{14}H_6$ d'origine des polluants.

Challenge test

Le challenge test est utilisé afin d'identifier le maximum de concentration en polluants supportable pour les micro-organismes tout en conservant une activité de dégradation.

Respiration test

Le Respiration test donne des informations sur la dynamique de métabolisation des polluants vers le CO_2 ou le CH_4 . Il sert à déterminer le bon paramétrage du contrôle simplifié par des gaz du réacteur naturel du site.

Micro cosmos study

Le développement de la culture des micro-organismes est testé sous des conditions physico-chimiques différentes (pH, Eh, accepteurs d'électrons, etc.).

Analyse des paramètres bio-géochimiques

L'analyse des paramètres bio-géochimiques sur site se concentre surtout sur les accepteurs d'électrons comme l' O_2 , le NO_3^- , le SO_4^{2-} , le ratio Fe^{2+} / Fe^{3+} , etc. pour bien identifier les capacités de dégradation microbiologique en dépendance des paramètres analysés et du pH et Eh (potentiel redox) du milieu.

Tests écotoxicologiques

L'objectif des tests écotoxicologiques est de déceler les paramètres gênant la dégradation microbiologique. Par exemple des tests écotoxicologiques après un stripping des échantillons indiquent si le paramètre gênant est une substance volatile. Des tests écotoxicologiques sur les résidus métalliques d'un échantillon indiquent si le paramètre gênant pour les micro-organismes consiste en un ou plusieurs métaux lourds, etc. ⁽¹⁷⁾.

Dans ce cas, une stabilisation microbiologique *in situ* est planifiée, par exemple pour transformer par des bactéries, le plomb soluble en sulfate de plomb insoluble ou l'arsenic III-valent mobile en V-valent immobile.

Les tests écotoxicologiques sont effectués par des bactéries du sol du type *pseudomonas* ou *coli* génétiquement modifiées pour produire la *Luciferase* (enzyme responsable de la production de lumière).

Ces micro-organismes ont été élevés pour l'application en laboratoire dans le cadre du projet Orlando ⁽⁵⁾. L'avantage par rapport aux tests écotoxicologiques classiques du

type Microtox vient du fait qu'il s'agit d'une application de bactéries typiques du sol et non pas de bactéries marines qui ne sont pas réellement significatives pour les études sur les sols pollués. Les tests écotoxicologiques à l'aide de bactéries marines sont utilisés dans le cadre des pollutions marines et côtières.

Analyses physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques sont effectuées afin de connaître les concentrations exactes en polluants et leurs métabolites ou produits de dégradation abiotique (hydrolyse, etc.). Le fait que les métabolites sont souvent des produits polaires nécessite la réalisation d'analyses par GC-MS (chromatographie gazeuse – spectrométrie de masse) avec des procédures préalables de dérivation (estérification, étherification, silylation, etc.).

BPCM – Bioremediation Protocol Computer Model

L'application du BPCM nécessite l'obtention préalable des résultats des étapes du Bioremediation Protocol, pour que la simulation des scénarii de dégradation naturelle ou renforcée (dynamisée) soit spécifique au site.

L'objectif de l'application du BPCM est d'effectuer :

- Une cartographie des délais par atténuation naturelle de dégradation des polluants jusqu'au niveau souhaité,
- La détermination des zones où une atténuation naturelle dynamisée est applicable, des moyens et du temps de traitement nécessaire,
- La détermination des zones où un traitement microbiologique *in situ* (par exemple avec un apport de micro-organismes) est nécessaire,
- La détermination des zones qui nécessitent des traitements actifs (on-site, off-site), là où la présence des polluants est la plus forte (source des pollutions),
- La définition des mesures nécessaires en ce qui concerne les changements des milieux physico-chimiques et microbiologiques (nutriments, accepteurs d'électrons, pH, Eh, etc.) pour une application de l'atténuation naturelle dynamisée.

Ces mesures simples sont par exemple la mise en place de murs bio-réactifs ou l'application des produits du type ORC (oxygen released compounds) ou HRC (hydrogen released compounds) comme par exemple le peroxyde de magnésium (MgO_2 modifié), etc.

La définition des mesures de contrôle (monitoring) est nécessaire afin d'assurer un

Dépollution des sols



ATE

maximum d'efficacité du traitement comme par exemple par la Band et pour assurer l'absence de risques.

Ceci est possible par la réalisation de prélèvements et analyses périodiques ou on-line en temps réel qui pourraient être couplés avec un logiciel d'EDR-Santé (évaluation détaillée des risques) ^(18 à 25) en temps réel. Le monitoring du bon fonctionnement du réacteur naturel dynamisé et de l'absence des risques peut être suivi par un poste de commandement centralisé qui permet des interventions automatiques.

Ce type d'application de la Band est même possible après un accident ou après la vente d'un terrain et d'une utilisation plus sensible qu'industrielle car ce monitoring/EDR-on-line prouvera l'efficacité et l'absence de risques. Ce principe est possible grâce à l'utilisation de détecteurs (spectroscopie laser, etc.) et l'acquisition de données en temps réel qui permet des interventions interactives.

L'ensemble d'une étude de faisabilité technico-économique du bio-restoration protocol permet :

- La détermination des zones nécessitant des traitements actifs et de zones traitables par des méthodes douces (passives).
- Le contrôle de la bio-atténuation naturelle au cours de son application dans le cadre de la réhabilitation d'un site pollué (terrestre ou marin).
- L'application de campagnes de tests et analyses du coût économique pour remplacer une dépollution lourde et coûteuse par un traitement doux contrôlé (atténuation naturelle avec ou sans dynamisation).
- D'assurer la bonne surveillance du transfert des polluants et des risques potentiels.
- De prouver que la bio-atténuation naturelle utilisée comme méthode de traitement des sites est applicable et fiable dans le cas d'un bon contrôle qui permet une intervention éventuelle dans le cadre d'une parfaite maîtrise du réacteur naturel : sous-sol.

L'objectif final est l'application des meilleures conditions de la Band pour dégrader, par la voie microbiologique naturelle, les polluants à une vitesse maximale afin de limiter les traitements prolongés et coûteux. Le but est surtout d'économiser sur les

temps de traitements actifs qui s'avèrent trop onéreux. ■

Références

1. Karg, F. (2002) : *Microbial & biochemical techniques to evaluate and to implement in situ biodegradation potential and activity at sites contaminated with aromatic and chlorinated hydrocarbons*. Book of Abstracts : EMEC3 European Meeting on Environmental Chemistry, Association of Chemistry and the Environment, Genève / Switzerland, 11 - 14/12/2002
2. Henkler, C. & Karg, F. (2002) : *Microbial & Molecular Techniques to Evaluate in situ Biodegradation and Activity at Sites Contaminated with Aromatic and Chlorinated Hydrocarbons*. Poster Dechema-Congress "Natural Attenuation" 06/2002 à Heidelberg / Allemagne
3. Karg, F. (2003) : *Microbial & Molecular Techniques to Evaluate and to Implement in situ Biodegradation Potential and Activity at Sites Contaminated with Aromatic and Chlorinated Hydrocarbons*. Poster ConSoil 2003, FZK/TNO International Conference on Contaminated Land, 12-16 May, 2003, Gent / Belgium
4. Karg, F. (2003) : *Application de l'atténuation naturelle dynamisée dans le cadre de la pollution de solvants (utilisation de la PCR)*. Interchimie Nations Unies : Séminaire sur l'Analyse, les Méthodologies de Traitement et la Réhabilitation des Sols et Eaux Souterraines Pollués : Minutes d'Intersol 2003, Palais de Congrès, Paris 03/04/2003
5. Karg, F., Henkler, R.D, Anderson, B.N. (1999) : *Feasibility study - Optimisation and control of In Situ Bioremediation systems - End point scenario for Natural Attenuation*. Minutes du Symposium Biodepol, Rennes/ France, 26 & 27/10/1999
6. Martin, F. Blaine, J.F. Barker, C. Lamarche, N. Thomson, F. Lauzon, P. Lamarche, J. Kerr (2002) : *Natural Attenuation, In Situ Source Oxidation and Enhanced Natural Attenuation of Coal Tar Creosote Chemicals - A Controlled Source Field Experiment in the Borden Aquifer*. Petroleum Hydrocarbon and Organic Chemicals in Ground Water : Prevention, Assessment, and Remediation Conference and Exposition, National Ground Water Association and American Petroleum Institute, Atlanta, GA, 6-8 Nov 2002
7. Karg, F. (2001) : *Sites pollués : les hydrocarbures : La complexité des polluants les plus courants*. - Environnement & Technique n° 206 - 05/2001, p. 39-45
8. Karg, F. (1999) : *Sites contaminés par les solvants chlorés : Approches techniques en lien avec les métabolites toxiques* - Environnement & Technique 12/1999, n° 192, p. 42-46
9. Karg, F. (1999) : *Audits et dépollution des sites contaminés par des solvants chlorés : Approches technologiques en lien avec les métabolites toxiques*. Minutes du Colloque du Comité national français de l'association internationale des hydrogéologues, Ministère de la recherche, Paris.
10. Karg, F. (2001) : *Eaux, sols et sites pollués par des substances organochlorées*. - Environnement & Technique n° 210 - 10/2001, p. 29-35
11. Karg, F. & Clement M. (1997) : *Méthodologie systématique du diagnostic et de la réhabilitation des sites et sols pollués par les explosifs*. Revue Scientifique et Technique de la Défense - DGA, Nr. 2, S. 231-238
12. Karg, F. (1997) : *Research into the Environmental Chemistry, Investigation and Assessment of Ammunition Residues and Military sites*. Land Contamination & Reclamation, Volume 5, Nr. 2, S. 99-107
13. Karg, F. (1999) : *Breakdown Products Complicate Munitions Remediation*, Pollution Engineering International, Spring 1999, S. 12-14
14. Karg, F. (1999) : *Environmental Chemistry, Investigation and Assessment of Ammunition Residues and Military sites*. Minutes du Symposium Biodepol, Rennes/France, 27 & 28/10/1999
15. Karg, F. (2001) : *Sites militaires et l'industrie ancienne de l'armement : Les pollutions par les explosifs et leurs métabolites toxiques*. - Environnement & Technique n° 204 - 03/2001, p. 35-38
16. Karg, F. (2003) : *La chimie environnementale et risques sanitaires des sites pollués par les amines toxiques*. Environnement & Technique n° 225, p. 21-28
17. Karg, F. (2001) : *Sites pollués par les métaux lourds : Les pollutions les plus anciennes*. - Environnement & Technique n° 212 - 12/2001, p. 91-96
18. Karg, F. (2000) : *Evaluation détaillée des risques pour la santé sur des sites pollués* - Environnement & Technique n° 197 - 06/2000, p. 46-49
19. Karg, F. Huglo, C., Coupé, J., Debakre, J (2000) : *Evaluation détaillée des risques pour la santé dans les études d'impact et sur des sites pollués* - Réalisation technique et scientifique, Approche juridique - Déchets Sciences et Techniques n° 19 - 3ème trim. 2000, p. 23-36
20. Karg, F. (2002) : *Evaluation des risques sanitaires en cas de pollution côtière et marine*. - Environnement & Technique n° 215 - 03/2002, p. 27-32.
21. Karg, F. (2002) : *Evaluation des risques pour la santé en cas de pollution marine et côtière* - Minutes du colloque et CD-room : Safer Seas : Leçons de l'Erika, Brest, 13 - 16/03/2002
22. Karg, F. (2002) : *Gestion immobilière et urbanisation des sites pollués : Application des EDR pour le développement des meilleurs scénarios d'aménagement et de réhabilitation économiques*. Environnement & Technique n° 216 - 05/2002, p. 27-30
23. Karg, F. (2002) : *Gestion immobilière et urbanisation des sites pollués : Application des EDR pour le développement des meilleurs scénarios d'aménagement et de réhabilitation économiques*. L'Hexagone, Avril/Mai 2002. p. 13-16
24. Karg, F. (2002) : *Protection du foncier contre les risques de pollution : Les bonnes règles contre les risques financiers, juridiques, sanitaires et environnementaux*. Environnement & Technique n° 221, p. 37-34
25. Gobins J. & Karg, F. (2003) : *Gestion des problèmes immobilières, financiers, environnementaux et de santé sur des sites pollués à urbaniser*. Interchimie-Nations Unies : Séminaire sur l'analyse, les méthodologies de traitement et la réhabilitation des sols et eaux souterraines pollués : Minutes d'Intersol 2003, Palais des Congrès, Paris 02/04/2003.