



**HAL**  
open science

## Données récentes sur l'analyse du tartre en archéologie

Mattia Bossi

► **To cite this version:**

Mattia Bossi. Données récentes sur l'analyse du tartre en archéologie. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. dumas-01494301

**HAL Id: dumas-01494301**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01494301>**

Submitted on 23 Mar 2017

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

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



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License



UNIVERSITÉ  
**PARIS**  
**DESCARTES**

MEMBRE DE

**U<sup>S</sup>PC**  
Université Sorbonne  
Paris Cité

## **AVERTISSEMENT**

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en chirurgie dentaire. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2 - L 335.10

# UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES

## FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

**Année 2017**

**N° 013**

**THÈSE**

**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE**

Présentée et soutenue publiquement le : 20 janvier 2017

Par

**Mattia BOSSI**

**Titre de la thèse :**

**Données récentes sur l'analyse du tartre en archéologie**

Dirigée par M. le Docteur Jean-Claude TAVERNIER

JURY

Mme le Professeur Sylvie SÉGUIER

Président

M. le Docteur Jean-Claude TAVERNIER

Assesseur

M. le Docteur Daniel NEBOT

Assesseur

M. le Docteur Romain ORLU

Assesseur

M. le Docteur Jonathan SELLEM

Invité



## Tableau des enseignants de la Faculté

DÉPARTEMENTS	DISCIPLINES	PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS	MAÎTRES DE CONFÉRENCES
1	ODONTOLOGIE PÉDIATRIQUE	Mme VITAL Mme DAVIT-BEAL	M. COURSON Mme DURSUN Mme VANDERZWALM Mme JEGAT
	ORTHOPÉDIE DENTO-FACIALE		Mme BENAHMED M. DUNGLAS Mme KAMOUN-GOLDRAT Mme LE NORCY
	SANTÉ COMMUNAUTAIRE ET POPULATIONS SINGULIÈRES	Mme FOLLIGUET M. PIERRISNARD	M. NEBOT
2	PARODONTOLOGIE	Mme COLOMBIER	M. BIOSSE DUPLAN Mme DRIDI Mme GOSSET M. GUEZ
	MÉDECINE ET CHIRURGIE BUCCALES	M. MAMAN	Mme EJEIL M. GAULTIER M. HADIDA M. NGUYEN Mme RADOI
3	ODONTOLOGIE CONSERVATRICE ENDODONTIE	Mme CHEMLA M. LASFARGUES	Mme BESNAULT M. BONTE Mme BOUKPESSI M. DECUP Mme GAUCHER
	PROTHÈSE	M. POSTAIRE	M. CHEYLAN M. DAAS M. DOT M. EID Mme FOUILLOUX-PATEY Mme GORIN M. RENAULT M. RIGNON-BRET M. TIRLET M. TRAMBA Mme WULFMANN
4	PRÉVENTION-ÉPIDÉMIOLOGIE ÉCONOMIE DE LA SANTÉ ET ODONTOLOGIE LÉGALE		Mme GERMA M. PIRNAY M. TAVERNIER
	SCIENCES BIOLOGIQUES	Mme CHAUSSAIN M. GOGLY Mme POLIARD M. ROCHEFORT Mme SEGUIER	M. ARRETO Mme BARDET Mme CHARDIN M. LE MAY M. FERRE (MCU associé) Mme CHERIFI (MCU associée)
	SCIENCES ANATOMIQUES PHYSIOLOGIQUES ET OCCLUSODONTIQUE		M. ATTAL Mme BENBELAID Mme BENOIT M. BOUTER M. CHARRIER M. CHERRUAU M. FLEITER Mme FRON M. SALMON Mme TILOTTA

Janvier 2017

**À Madame le Professeur Sylvie SÉGUIER,**

Docteur en Chirurgie Dentaire,  
Docteur de l'Université Paris Descartes,  
Habilité à Diriger des Recherches,  
Professeur des Universités, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris Descartes,  
Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

*Qui m'a fait l'honneur de présider cette thèse,  
Qui m'a prodigué un enseignement de qualité aussi bien théorique que  
pratique,  
Qui a toujours su encadrer cet enseignement avec justesse,  
À qui je n'oublierai plus jamais l'accent aigu sur son nom (même sur une  
majuscule),  
Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et  
ma profonde reconnaissance.*

**À Monsieur le Docteur Jean-Claude TAVERNIER,**

Docteur en Chirurgie Dentaire,  
Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris  
Descartes,  
Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris,  
Chevalier de l'ordre national du mérite,  
Officier de l'ordre des palmes académiques

*Qui m'a fait l'honneur d'accepter de diriger ce sujet de thèse,  
Qui a su me donner goût à l'archéologie grâce à son enseignement,  
Qui m'a aiguillé dans mon travail de recherche avec gentillesse,  
Qui a toujours une anecdote historique racontée avec humour qu'on  
écoute avec attention,  
Veuillez trouver ici l'expression de mes remerciements les plus sincères et  
ma profonde reconnaissance.*

**À Monsieur le Docteur Daniel NEBOT,**

Docteur en Chirurgie Dentaire,  
Docteur de l'Université Paris Descartes,  
Docteur en Sciences Odontologiques,  
Maître de Conférences des Universités, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris  
Descartes,  
Praticien Hospitalier, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris,  
Officier de l'Ordre National du Mérite,  
Chevalier de l'Ordre des Palmes Académiques

*Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury de thèse,  
Qui m'a délivré un enseignement de qualité,*

**À Monsieur le Docteur Romain ORLU,**

Docteur en Chirurgie Dentaire,  
Assistant Hospitalo-Universitaire, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris  
Descartes

*Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer à ce jury de thèse,  
Avec qui j'ai partagé mes meilleurs moments d'étudiants (et je sais que  
tu te souviens de chacun d'entre eux),  
Qui est resté un ami malgré les années et nos vies respectives qui nous  
séparent,  
A qui j'adresserai toujours mes patients pour des soins endodontiques les  
yeux fermés,  
Je te remercie d'être toujours là et je sais que je peux compter sur toi, tu  
as ma profonde reconnaissance.*

**À Monsieur le Docteur Jonathan SELLEM,**

Docteur en Chirurgie Dentaire,  
Assistant Hospitalo-Universitaire, Faculté de Chirurgie Dentaire Paris  
Descartes

*Qui m'a fait l'honneur d'accepter de participer au jury de cette thèse,  
Avec qui j'ai partagé de bons moments de la vie étudiante,  
Qui a toujours été un exemple de sérieux dans les études à mes yeux,  
Qui a toujours eu cette modération qui m'a tant fait défaut,  
Tu trouveras ici l'expression de mes remerciements les plus sincères.*

## **REMERCIEMENTS**

- À ma compagne Alexandra que j'aime.
- À mes parents qui m'ont soutenu tout le long de mon (trop) long parcours universitaire.
- À mes deux petits frères Lorenzo et Simon pour toujours m'avoir compris et accepté mes choix.

# TABLES DES MATIÈRES

<b><u>Introduction</u></b> .....	<b>2</b>
<b><u>PARTIE I: Le tartre, Généralités</u></b> .....	<b>4</b>
<b><u>1. Composition du tartre</u></b> .....	<b>5</b>
1.1 Composés organiques .....	6
1.1.1 Acides aminés .....	6
1.1.2 Contenu lipidique .....	6
1.1.3 Carbohydrates .....	7
1.1.4 Macromolécules .....	7
1.2 Composés inorganiques .....	7
1.3 Différence entre tartre supra et sous gingival .....	8
<b><u>2. Formation du tartre</u></b> .....	<b>9</b>
<b><u>3 Structure du tartre</u></b> .....	<b>9</b>
<b><u>Partie II : Technique de prélèvement et de préparation des échantillons de tartre</u></b> .....	<b>10</b>
<b><u>1. Prélèvement du tartre sur les sites archéologiques</u></b> .....	<b>10</b>
<b><u>2. Préparation des échantillons en vue de l'analyse optique.</u></b> .....	<b>13</b>
<b><u>PARTIE III : Analyse optique des dépôts tartriques.</u></b> .....	<b>15</b>
<b><u>1. Rappel sur les microscopes optique et électronique à balayage</u></b> .....	<b>15</b>
<b><u>2. Etude des microfossiles contenus dans le tartre</u></b> .....	<b>18</b>
2.1 Amidon .....	19
2.1.1 Techniques d'analyse des grains d'amidon .....	21
2.1.2 Identification des grains d'amidon .....	24
2.2 Phytolithes .....	26
2.2.1 Techniques d'analyse des phytolithes .....	27
2.2.2 Limitations de l'étude menée par Lalueza-Fox .....	28
2.3 Pollen, diatomées, et spores fongiques .....	32
<b><u>3. Analyse d'un cas particulier : Des fibres de coton piégées dans le tartre</u></b> .....	<b>34</b>
<b><u>Partie IV : Analyse isotopique</u></b> .....	<b>37</b>
<b><u>1. Prélèvement et préparation des échantillons</u></b> .....	<b>37</b>
<b><u>2. La Technique d'analyse</u></b> .....	<b>38</b>
<b><u>Partie V : Analyse ADN des dépôts tartriques</u></b> .....	<b>39</b>
<b><u>1. Les études sur le microbiome oral à partir du tartre</u></b> .....	<b>43</b>
<b><u>2. Méthodologie</u></b> .....	<b>50</b>
<b><u>Conclusion</u></b> .....	<b>50</b>
<b><u>BIBLIOGRAPHIE</u></b> .....	<b>52</b>
<b><u>TABLES DES FIGURES</u></b> .....	<b>56</b>

# Introduction

La **paléontologie** est la discipline scientifique dédiée à l'étude de l'histoire de la vie sur notre planète à travers l'analyse scientifique des fossiles, des êtres vivants ayant peuplé la terre pendant les différentes périodes géologiques.

Le mot **fossile** indique des restes de plantes, animaux, microorganismes préservés grâce à des processus de minéralisation plus ou moins étendus ou bien à des empreintes sur des matériaux minéralisés.

Dans le domaine de la paléontologie humaine, l'étude de restes fossilisés a pour objectif d'amener des éléments de réponse concernant les différents aspects du style de vie des populations du passé, de leurs interactions avec le milieu environnant, de leurs habitudes alimentaires, de leur santé, de leur culture. Par exemple, les premières études de restes osseux ont permis de déterminer l'âge et le genre des individus. Bien que chaque reste d'un squelette ait sa propre histoire, la nature décompose et détruit les différentes parties de notre corps selon leur fragilité intrinsèque, mais l'émail qui recouvre les dents est si solide qu'ils traversent les millénaires. Que ce soit celui d'un adulte ou d'un enfant, le paléontologue pourra déterminer à partir des dents, par exemple, si la personne souffrait de malnutrition. L'étude des dents permet aussi de mettre en évidence des maladies infantiles et leurs impacts sur la santé générale, car une fois l'émail formé, il ne se modifie plus. L'émail dentaire étant la structure la plus dure de notre corps, son excellent niveau de préservation en fait donc un matériel de choix pour les paléontologues.

Depuis quelques années, un deuxième matériel, le tartre dentaire, s'est révélé être un réservoir d'informations aussi inattendu que précieux et sur certains aspects, plus informatif que l'émail. Avec des études combinant

datation au carbone 14 et l'analyse optique du tartre dentaire, les paléontologues mettent en évidence les habitudes alimentaires d'un animal ou d'un humain. L'analyse des différents types d'aliments retrouvés dans le tartre fossilisé de ces populations anciennes, nous donne une idée des changements culturels et environnementaux des populations passées.

Désormais on est aussi capable d'obtenir de l'ADN humain, microbien ou alimentaire, exploitable à partir d'un seul échantillon de tartre, ce qui minimise la quantité à prélever pour l'analyse. Bien que le tartre dentaire se préserve au même titre que certains tissus humains, il n'est cependant pas considéré en tant que tel. Cette dernière caractéristique revêt une importance indéniable, puisque dans certaines cultures, l'étude destructive de restes humains n'est pas acceptée.

Le tartre dentaire est une forme calcifiée de la plaque dentaire qui s'enrichit passivement d'ADN humain et de protéines essentiellement d'origine salivaire et des sécrétions de l'hôte. Une fois le tartre minéralisé par l'action du temps, l'ADN humain ainsi que les protéines qui se trouvent enfermés peuvent être préservés pendant des milliers d'années. Les dernières études démontrent aussi que le tartre fossilisé constitue un réservoir exceptionnel de bactéries « fossiles » ayant fait partie du microbiome oral du donneur.

Ce mémoire s'inscrit dans le cadre d'une recherche bibliographique. J'ai présenté un aperçu des différentes approches expérimentales et technologiques qui ont été utilisées dans l'étude archéologique du tartre. Ces informations sont obtenues grâce à des approches et des perspectives qui intègrent des techniques nouvelles comme le séquençage massif de l'ADN. Ce dernier aspect a mérité un traitement plus approfondi, car la puissance de l'approche conduit vers une vraie révolution dans le domaine.

La démarche méthodologique a impliqué, en premier lieu, une recherche bibliographique à l'aide des mots clés. Les mots ont été utilisés, presque

toujours en couple ou en trio. Le premier mot était toujours tartre (ou dental calculus en anglais). Ils ont été associés aux mots : « analyse », « archéologie », « microscope » « ADN », « fossile », « paléontologie », « squelette », « restes », « tombes » « période », pour citer les plus courants. Les recherches ont été effectuées en parallèle en anglais et en français. Cette recherche bilingue a permis de faire ressortir des dizaines de textes tant sur des sites internet que des chapitres de livres ; et surtout des articles publiés dans des revues scientifiques internationales. Les articles sélectionnés ont été au nombre de 21. Ensuite, il y a eu une deuxième catégorie de références bibliographiques qui correspondent à des travaux cités dans les articles étudiés. Pour ces références, j'ai vérifié le contenu autant que possible, certains n'étant pas accessibles dans leur intégralité. La totalité des études ayant cité ces références, ont été publiées dans des revues à comité de lecture.

## **PARTIE I : Le tartre, Généralités**



*Figure 1: Tartre présent sur une molaire*

Source: Charlier et al., « The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD) ». 2012.

## **1. Composition du tartre**

Le tartre est défini comme la minéralisation du biofilm produisant des cristaux de différents phosphates de calcium. Cependant il existe plusieurs définitions en fonction des sources bibliographiques:

- Le tartre peut être défini comme une concrétion dure qui se forme sur les dents ou les prothèses dentaires par calcification de la plaque bactérienne<sup>1</sup>
- Le tartre est la minéralisation de la plaque bactérienne qui se forme sur la surface naturelle de la dent ou d'une prothèse dentaire.<sup>2</sup>

Le tartre dentaire est principalement constitué de composants organiques et inorganiques. Les phospholipides représentent 10% des lipides totaux avec des phosphatidyléthanolamines et des phosphatidylinositols. Ces derniers jouent un rôle important dans la minéralisation de la plaque dentaire. Ils proviennent à la fois de la salive et des constituants membranaires des bactéries.

---

<sup>1</sup> The American academy of periodontology, *Glossary of periodontal terms*.

<sup>2</sup> Newman, *Carranza's clinical periodontology*.

## **1.1 Composés organiques**

La phase organique se compose de 8% de protéines, 3% de graisses et d'eau<sup>3</sup>. Le tartre supra gingival contient des lipides et des carbohydrates. La fraction lipidique est constituée de cholestérol, d'esters de cholestérols, de phospholipides et d'acides gras. Plus de la moitié de la matrice tartrique est composée de protéines d'origine bactériennes piégées et de protéines salivaires.

### **1.1.1 Acides aminés**

La plus grosse étude sur la teneur protéique du tartre a été menée par Osuoji et Rowles. L'analyse porta sur les acides aminés présents dans du tartre supra et sous gingival (déminéralisés par hydrolysat acide) séparément. 17 acides aminés ont été détectés avec l'acide glutamique, l'acide aspartique, la glycine, l'alanine, la valine et la leucine formant la plus grosse proportion du résidu isolé. Aucune trace de cystéine et hydroxyproline n'ont été relevées confirmant ainsi l'absence de kératine ou de collagène<sup>4</sup>.

### **1.1.2 Contenu lipidique**

Le contenu lipidique de tartre séché a également été étudié par Osuoji et Rowles utilisant une méthode d'extraction au chloroforme méthanol suivie de techniques de chromatographie<sup>4</sup>. Ces auteurs ont pu mettre en évidence la présence de différents lipides et acides gras. La proportion de lipides constitue 15,3% du résidu sec de tartre décalcifié incluant phospholipides, cholestérol ester, diglycérides, triglycérides et acides gras. Les acides gras représentent la plus grosse partie de la fraction lipidique. Les acides

---

<sup>3</sup> Mandel et Levy, « Studies on salivary calculus. I. : histochemical and chemical investigations of supra- and subgingival calculus ».

<sup>4</sup> Osuoji et Rowles, « Studies on the organic composition of dental calculus and related calculi ».

prédominants sont les acides palmitiques, stéarique, oléique, ainsi que la faible quantité d'acide gras insaturée (linoléique et linoléique).

### **1.1.3 Carbohydrates**

Les études de Little et collaborateurs sur les hydrolysats de tartre décalcifié montrent la présence d'une palette de constituants sucrés incluant le glucose, le galactose, la galactosamine, l'acide glucuronique, l'acide galacturonique, la glucosamine, la galactosamine, du rhamnose et parfois de l'arabinose<sup>5</sup>. Aucune différence sur la teneur en carbohydrate n'a été montrée entre les différents sites de prélèvement du tartre.

### **1.1.4 Macromolécules**

Il semblerait que pendant la formation du tartre la majorité des composants salivaires notamment ceux possédant des groupements ionisables soient capables d'interagir avec la surface amphotérique des phosphates de calcium. Il s'agit des glycoprotéines salivaires et des glycosaminoglycanes.

## **1.2 Composés inorganiques**

Il a été montré que le phosphate octocalcique  $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_4(\text{HPO}_4)_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ , l'hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  et le phosphate tricalcique beta ou whitlockite  $\text{Ca}_9(\text{MgFe})(\text{PO}_4)_6\text{PO}_3\text{OH}$  forment la partie inorganique du tartre supra et sous gingival. La brushite ou dicalcique phosphate dihydrate  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , est présente au stade initial de formation du tartre supragingival. Le pourcentage de ces 4 principaux cristaux (déterminé par Newman et collaborateurs<sup>6</sup>) est :

---

<sup>5</sup> Little et al., « The composition of dental calculus. 3. supragingival calculus : the amino acid and saccharide component ».

<sup>6</sup> Newman, *Carranza's clinical periodontology*.

- Phosphate octocalcique: 21%
- Hydroxyapatite: 58%
- Phosphate tricalcique beta ou whitlockite : 21%
- Brushite ou dicalcique phosphate dihydrate : 9%

### **1.3 Différence entre tartre supra et sous gingival**

On distingue le tartre supra gingival et sous gingival :

Le tartre supra gingival se développe principalement sur la face linguale des incisives inférieures et sur la face vestibulaire des molaires supérieures. Ce tartre est localisé près des orifices des canaux excréteurs des glandes submandibulaires et parotidiennes. Sa formation débute par une adsorption sélective des protéines salivaires à la surface des dents, suivie d'une adhésion et d'une colonisation de cette pellicule par les bactéries. Ce biofilm, les bactéries et la matrice inter bactérienne fournissent alors un environnement dans lequel la minéralisation peut avoir lieu et qui aboutit à la formation du tartre<sup>7</sup>.

Le tartre sous gingival ou tartre sérique est localisé sous le rebord gingival dans le sulcus ou dans la poche parodontale. Il est plus adhérent, plus dur que le tartre supra gingival et d'une couleur brune ou noire. Sa couleur résulte de la combinaison d'éléments hémorragiques, du fluide crévulaire et de la pigmentation noire de certaines bactéries anaérobies. Il est situé principalement sur les faces linguales et proximales des dents avec une distribution égale sur toutes les dents de la cavité buccale<sup>8</sup>.

La composition du tartre sous gingival est similaire à celle du tartre supra gingival avec cependant de petites différences :

---

<sup>7</sup> Davies et al., « Supragingival calculus and periodontal disease. »

<sup>8</sup> Roberts-Harry et Clerehugh, « Subgingival calculus ».

- Il a la même teneur en hydroxyapatite, alors qu'on retrouve une quantité plus importante de whitlockite et moins de brushite et d'octacalcium de phosphate.
- Le ratio calcium/phosphate est supérieur en sous gingival et la teneur en sodium augmente avec la profondeur des poches parodontales.
- Les protéines salivaires retrouvées en supra gingival ne sont pas retrouvées en sous gingival.
- En terme de volume, le pourcentage de minéraux dans le tartre supra gingival varie entre 16 et 80% contre 46 à 88% pour le tartre sous gingival<sup>6</sup>.

## **2. Formation du tartre**

La formation du tartre est toujours précédée par celle de la plaque qui va jouer le rôle de matrice organique pour la minéralisation ultérieure du dépôt. Au départ, de petits cristaux vont apparaître à la périphérie de la membrane bactérienne. Ce phénomène s'étend ensuite à toute la matrice inter bactérienne puis aux bactéries elles-mêmes. Muhlemann et Schroeder<sup>9</sup> ont démontré que la formation des cristaux dans la plaque débute après 38H et qu'il faut seulement 12 jours pour obtenir un tissu tartrique bien calcifié. Le tartre est principalement formé par la précipitation des ions carbonate et phosphate de la salive. Ces sels minéraux vont être unis par une matrice organique, des cellules épithéliales, des globules graisseux, des leucocytes et des bactéries. De plus, il semblerait qu'une salive alcaline soit une condition essentielle pour la formation du tartre<sup>8</sup>.

## **3. Structure du tartre**

La surface du tartre est recouverte d'une plaque bactérienne à grande diversité d'espèces. Les bactéries filamenteuses sont particulièrement

---

<sup>9</sup> Muehlemann et Schroeder, « Dynamics of supragingival calculus formation ».

nombreuses. Les filaments bactériens sont approximativement perpendiculaires à la surface du tartre sur lequel ils s'attachent directement. Les bactéries peuvent avoir la capacité d'inhiber la minéralisation et cela explique la présence de zones non minéralisées dans le tartre. Ces zones sont reliées par des canaux qui les mettent en communication avec l'extérieur. Quelques bactéries filamenteuses sont retrouvées dans ces zones non minéralisées. La calcification des sites superficiels de la plaque peut avoir comme conséquence l'interruption de l'apport des fluides riches en calcium nécessaires à la calcification des couches profondes. De nombreux canaux et des lacunes abritent des cocci Gram positif. Ces espèces, à l'apparence de staphylocoques, ont un faible potentiel de minéralisation. Le tartre sous gingival est fortement minéralisé et ne montre pas d'aire non minéralisée, c'est pourquoi peu de bactéries sont vivantes et les filaments et les bacilles ne présentent pas d'organisation précise.

## **Partie II : Technique de prélèvement et de préparation des échantillons de tartre**

### **1. Prélèvement du tartre sur les sites archéologiques**



**Figure 2: Tartre présent en lingual des incisives mandibulaires.**

Source : Hardy et al., « Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet ». 2009.

Les premières méthodes de prélèvement du tartre sur les sites archéologiques ont été décrites par Fox et collaborateurs et Reinhard et collaborateurs<sup>10</sup>. Ces chercheurs ont développé des techniques similaires qui consistent de manière générale à :

- Prélever les échantillons, noter la taille et le poids,
- Extraire le contenu par dissolution acide,
- Analyser ce contenu.

Ils utilisèrent des curettes ou des lames de bistouri pour décrocher le tartre de la surface des dents, mais ils démontrèrent que cela n'était efficace que pour des échantillons de 0,1 g ou plus.

Plus récemment Boyadjian et collaborateurs<sup>11</sup> ont présenté les résultats d'une nouvelle méthode « dental Wash » permettant la récupération de microfossiles au sein d'échantillons de tartres de très petite taille. Cette méthode diffère des précédentes dans le sens où le dépôt de tartres ont été dissous en immergeant directement la couronne des dents dans de l'acide chlorhydrique. Encore plus récemment, Henry et Piperno<sup>12</sup>

---

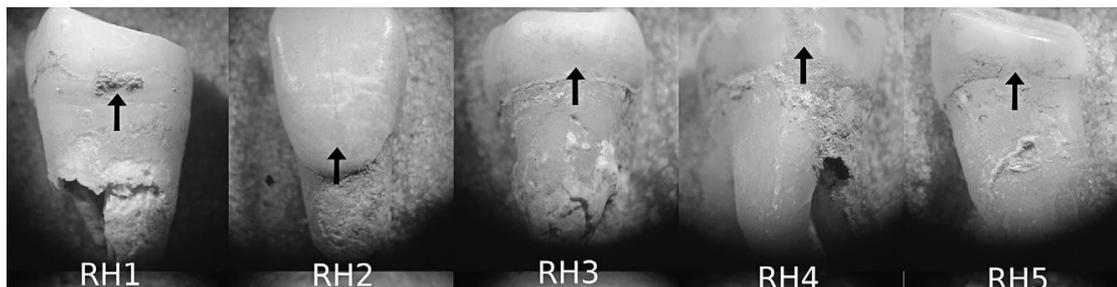
<sup>10</sup> Williams, *Human remains*.

<sup>11</sup> Boyadjian, Eggers, et Reinhard, « Dental wash ».

<sup>12</sup> Henry et Piperno, « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet ».

ont démontré grâce à une étude réalisée au microscope électronique que le prélèvement du tartre à l'aide d'instrument dentaire n'altérerait pas la surface des dents. De manière générale, si l'on recoupe les différentes études, le prélèvement du tartre au niveau des sites archéologiques respecte ce schéma suivant :

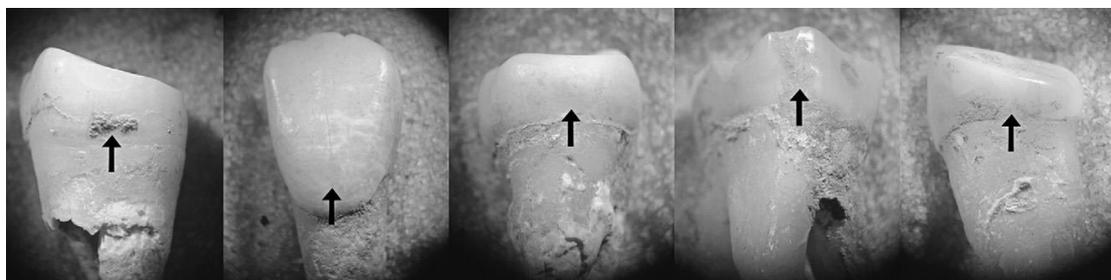
- Nettoyage de la zone de prélèvement avec une brosse à dents stérile ;
- Prélèvements d'échantillons de tartre épais à l'aide de curettes;



**Figure 3 : Photographie de la zone avant prélèvement.**

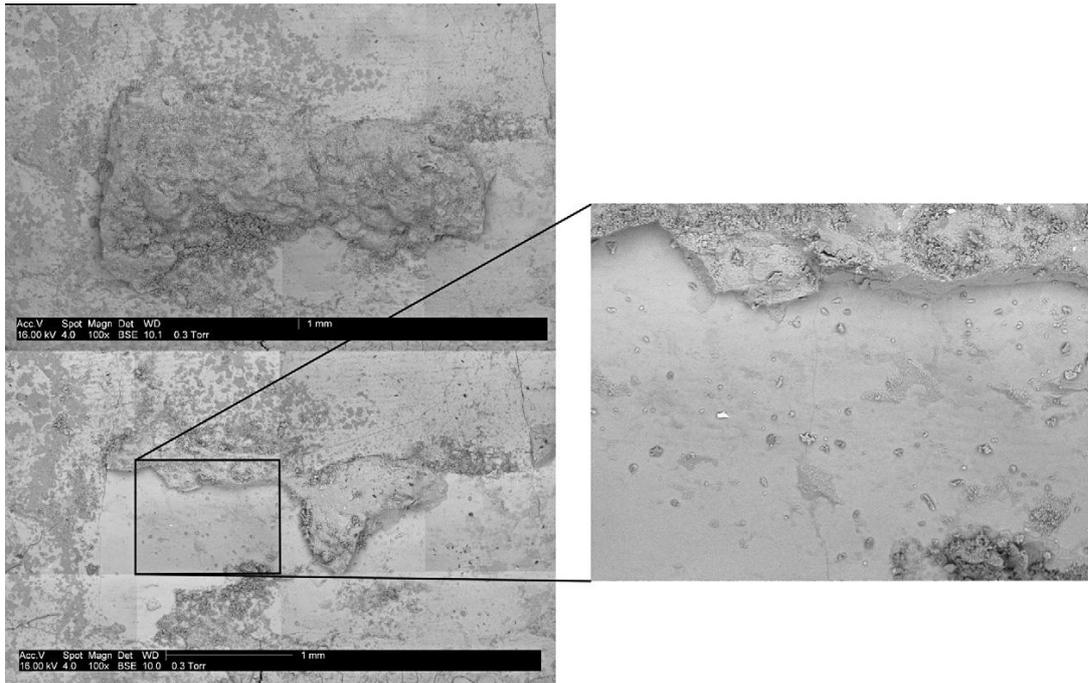
Source : Henry et Piperno, « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet ». 2008.

- Rinçage des échantillons avec de l'eau distillée et séchage ;
- Numérotation et placement des échantillons dans des tubes de centrifugeuse stériles.



**Figure 4 : Photographie de la dent avec le tartre restant.**

Source : Henry et Piperno, « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet ». 2008.



*Figure 5 : Image ESEM (Environmental Scanning Microscopy) d'une racine dentaire (en haut à gauche) et après (en bas à gauche) prélèvement. L'image de droite correspond à un gros plan de la zone avant été prélevée. aucun endommagement visible.*

Source : Henry et Piperno, « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet ». 2008.

## **2. Préparation des échantillons en vue de l'analyse optique.**

Dans les différentes études dont l'objectif est d'analyser avec des outils optiques le contenu microscopique du tartre, les échantillons subissent un traitement de dissolution chimique. D'une étude à l'autre ce traitement peut différer sur certains détails, néanmoins la technique et la méthodologie sont sensiblement les mêmes:

- La première étape consiste en une fragmentation fine de l'échantillon. Etant donné que les dépôts de tartre n'ont pas d'architecture propre, la fragmentation n'entraîne pas une perte d'information.

Cette réduction contribue aussi à une meilleure pénétration des substances fixatives.

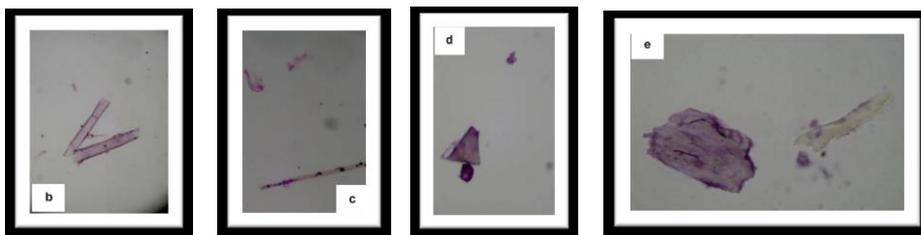
- Afin de réhydrater et de fixer les échantillons, ces derniers sont immergés dans de l'acide (chlorhydrique le plus souvent ou de l'acide acétique) pendant en moyenne 24 à 48H pour permettre une décalcification lente des fragments.
- La solution est obtenue en utilisant deux phases: une phase liquide de dépôts en suspension et une "pente" de phase solide. Ces deux phases sont examinées séparément.
- L'analyse cytologique des dépôts en suspension commence avec le surnageant. Le liquide est ensuite centrifugé et fixé ou non par un colorant et analysé sous microscope.
- L'étude de la phase solide est effectuée après une nouvelle centrifugation. La base est traitée avec AFA (acide acétique, formaldéhyde, alcool). Après fixation et décalcification, l'échantillon est placé dans une cassette sur une éponge, puis subit le circuit traditionnel d'inclusion (déshydratation en xylène et bains d'alcool de degré croissant, inclusion dans la paraffine liquide, refroidissement, découpe en tranches, dépôt sur une lame albuminée, séchage à l'air, déparaffinage et réhydratation suivis par des bains d'alcool de degré croissant et enfin eau distillée). À ce moment une coloration peut être effectuée.

# **PARTIE III : Analyse optique des dépôts tartriques.**

## **1. Rappel sur les microscopes optique et électronique à balayage**

### ***Le microscope optique***

Le microscope optique, ou microscope photonique, est un instrument d'optique muni d'un objectif et d'un oculaire qui permet de grossir l'image d'un objet de petites dimensions afin qu'il soit observable par l'œil humain. Il est utilisé en biologie, pour observer les cellules et les tissus, en pétrographie pour reconnaître les roches, en métallurgie et en métallographie pour examiner la structure d'un métal ou d'un alliage. La limite de résolution d'un microscope photonique classique est d'environ 0,2  $\mu\text{m}$ . Pour élément de comparaison la taille d'une cellule épithéliale varie entre 8 et 21  $\mu\text{m}$ .



***Figure 6 b, c, d, e : Structures végétales de l'épithélium de Malpighi sur du dépôt de tartre vieux de 4000 ans av J.C et structures cristallines***

Source: Charlier et al., « The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD) ». 2012.

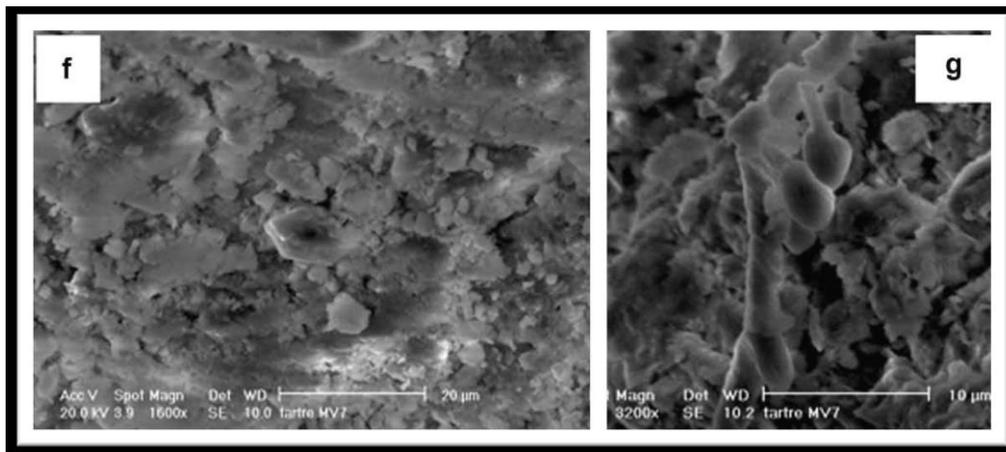
## ***Le microscope électronique à balayage (MEB en français, SEM en anglais : Scanning Electron Microscope)***

La microscopie électronique à balayage est une technique de microscopie capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon en utilisant le principe des interactions électrons-matière. La MEB consiste en un faisceau d'électrons balayant la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules. Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image en trois dimensions. De nos jours, la microscopie électronique à balayage est utilisée dans des domaines allant de la biologie à la science des matériaux. Un grand nombre de constructeurs proposent des appareils de série équipés de détecteurs d'électrons secondaires et dont la résolution se situe entre 0,4 nanomètres et 20 nanomètres.

Par nature, les échantillons biologiques contiennent de l'eau et sont plus ou moins mous. Ils nécessitent donc une préparation plus attentive qui vise à les déshydrater sans pour autant détruire la paroi des cellules. De plus, comme tous les échantillons destinés à être observés dans un MEB, ceux-ci doivent être conducteurs. Pour cela, ils doivent donc subir une préparation spécifique en plusieurs étapes.

La première étape vise à tuer les cellules tout en s'efforçant d'en conserver les structures pour que l'on puisse observer l'échantillon dans un état aussi proche que possible de l'état vivant. La seconde étape consiste à extraire de l'échantillon les éléments destinés à l'observation. Il n'est pas rare de ne s'intéresser qu'à un organe ou à un élément précis du spécimen. Il faut donc souvent isoler cette partie avant de la préparer pour l'observation. Il existe plusieurs techniques pour extraire ces parties. La plus simple étant une dissection manuelle ou la dissolution des parties molles. Une condition nécessaire à tous les échantillons, mais plus particulièrement les échantillons

biologiques, est la propreté. La surface de l'échantillon biologique à étudier doit contenir le moins d'impuretés possibles, pour permettre une netteté parfaite même avec des agrandissements importants. Pour cela, il existe trois principales techniques : le nettoyage manuel, mécanique ou chimique. Les échantillons doivent être secs et ne comporter aucune trace d'eau. En effet, la pression dans la chambre d'observation est très faible et les molécules d'eau contenues dans l'échantillon risqueraient de détruire les cellules en s'évaporant ou de polluer la chambre d'observation. Il existe également différentes méthodes pour y parvenir suivant la nature de l'échantillon biologique : séchage à l'air, par contournement du point critique ou par déshydratation chimique. Une fois nettoyé, séché, rendu conducteur, l'échantillon est prêt à être monté sur le porte-objet et placé dans la chambre d'observation.



***Figure 7 : Mise en évidence de cristaux de quartz (f) et de filaments fongiques avec des spores (g) dans des dépôts tartriques.***

Source: Charlier et al., « The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD) ». 2012.

La première méthode d'analyse du tartre par microscope a été développée en 1987 par Dobney<sup>13</sup>. En 2012 l'équipe du professeur P.Charlier a publié une étude portant sur l'analyse au microscope (optique et électronique) de différents échantillons de dépôts tartriques<sup>14</sup>. Après sondage et mesure sur l'ensemble des dents, les couches de dépôts tartriques ont été échantillonnées et examinées (après une décalcification partielle) avec différents outils (loupes binoculaires, microscope optique et électronique). Il a été possible d'identifier des débris alimentaires: fragments de céréales, fibres végétales, phytolithes, pollen, graines ainsi que des poils d'animaux, parasites, insectes. Tous ces éléments permettent d'apporter des informations supplémentaires sur le plan botanique, zoologique et parasitologique des individus d'une population.

## **2. Etude des microfossiles contenus dans le tartre**

Le tartre a été reconnu pour la première fois comme réservoir d'informations sur le régime alimentaire d'un individu quand Armitage en 1975 reconnu la présence de résidus de plantes sur les dents d'ongulés archéologiques<sup>15</sup>. Dobney et Brothwell en 1986, et plus tardivement en 1988, ont démontré l'importance du tartre dans l'étude des régimes alimentaires anciens<sup>16</sup>.

---

<sup>13</sup> Dobney et Brothwell, « A method for evaluating the amount of dental calculus on teeth from archaeological sites ».

<sup>14</sup> Charlier et al., « The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD) : potential interest in forensic anthropology of a bio-archaeological method ».

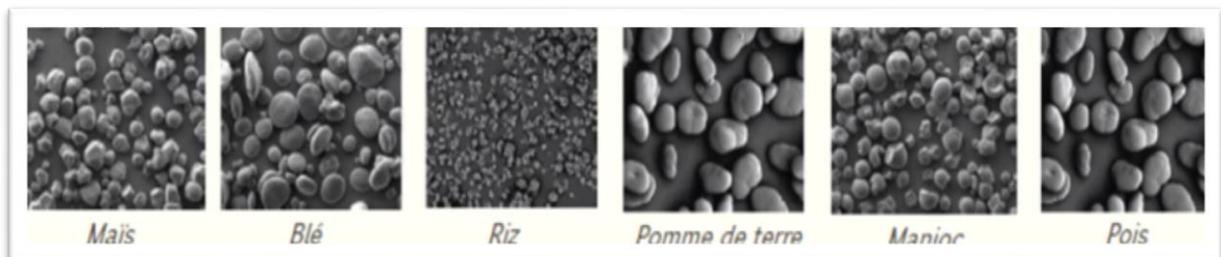
<sup>15</sup> Armitage, « The extraction and identification of opal phytoliths from the teeth of ungulates ».

<sup>16</sup> Dobney et Brothwell, « A method for evaluating the amount of dental calculus on teeth from archaeological sites ».

L'analyse des plantes et des microrésidus d'animaux présents dans le tartre archéologique constitue un axe de recherche de plus en plus important dans la reconstruction des habitudes alimentaires des populations passées. A ce jour, les chercheurs ont pu mettre en évidence la présence d'amidon, de phytolithes, de pollen, de diatomées et de chrysophycées, des spicules d'éponges et des particules minérales dans du tartre humain vieux de plus de 10.000 ans. Malgré l'intérêt grandissant de l'analyse du tartre comme source d'informations sur le régime alimentaire des populations passées, il demeure toujours beaucoup de questions sur les mécanismes faisant que les grains d'amidons ou des résidus de plantes soient préservés dans le tartre. Récemment, ce sont les grains d'amidons qui font l'objet de nombreuses études portant sur les régimes alimentaires des populations passées.

## **2.1 Amidon**

L'amidon (du latin *amylum*, non moulu) est un glucide complexe (polysaccharide) composé de chaînes de molécules du D-glucose. Il s'agit d'une molécule de réserve pour les végétaux supérieurs et un constituant essentiel de l'alimentation humaine. D'un point de vue microscopique l'amidon se présente sous la forme de grains dont la taille peut varier en fonction de la source botanique (entre 2 et 100  $\mu\text{m}$ ).



**Figure 8 : Les différentes morphologies des grains d'amidons en fonction de leurs provenances.**

Source : « AGIR, Agro-alimentaire innovation recherche »

Le grain d'amidon présente une forme organisée en lamelles d'oignon. On trouve alors deux zones distinctes dans cette organisation:

- Une partie **amorphe**, constituée d'un polymère appelé amylose. Cette molécule est un polysaccharide à structure hélicoïdale.
- Une partie qualifiée de **crystalline**, constituée d'amylopectine, un polysaccharide de la même nature que l'amylose mais dont la structure est ramifiée.

La teneur entre ces deux constituants varie beaucoup suivant la source botanique de provenance. Par exemple l'amidon de blé contient 28% d'amylose et 72% l'amylopectine<sup>17</sup>.

L'homme a choisi les plantes riches en amidon comme source alimentaire dès les phases initiales de son évolution ; la consommation de graines, de tubercules, de racines et de rhizomes et d'organes de réserves des plantes (ex bulbes) ont joué un rôle dans l'évolution des premiers ancêtres humains. Les graines et les organes de réserves arrivent en tête des récoltes. C'est presque étonnant que l'étude de l'amidon par récupération et identification des grains d'amidon ne soit devenue un sujet d'intérêt que récemment. Par exemple le premier ouvrage consacré aux différentes approches et procédures pour l'étude des grains d'amidons anciens n'a été publié qu'en 2006.

L'alimentation à base d'amidon constitue 50 à 70% de l'apport énergétique de la plupart des êtres humains de nos jours<sup>18</sup>. Des indices mêlant résidus archéologiques et archives ethnographiques laissent penser que l'alimentation à base d'amidon avait un rôle important dans les régimes alimentaires préagricoles. Malheureusement on s'est rendu compte que l'analyse de ces grains d'amidons pouvait se révéler difficile, lors de la recherche des grains sur les sites archéologiques que lors de leurs récupération. Dans un premier temps les grains d'amidon ont été récupérés sur des outils qui servaient vraisemblablement à broyer les aliments,

---

<sup>17</sup> Jane et al., « Preparation and properties of small particle corn starch ».

<sup>18</sup> Atkins et Bowler. *Food in society : economy, culture, geography*.

autrement dit à la cuisine. C'est pourquoi l'utilisation du tartre pour en extraire les grains d'amidon permet la reconstitution des régimes alimentaires. De plus, l'amidon survit dans les archives archéologiques pendant de longues périodes, due à sa structure semi cristalline. La manière dont il reste emprisonné et préservé dans le tartre reste encore non élucidé. En effet, le milieu buccal est un environnement hostile pour la préservation de l'amidon à cause de l'action des enzymes digestives salivaires et de l'activité bactérienne. Pendant la formation du tartre et l'étape de minéralisation, les grains d'amidons sont exposés à l'alpha amylase, qui est présente dans la salive humaine et chez beaucoup d'autres mammifères. L'alpha amylase digère rapidement l'amidon par clivage (hydrolyse) de la structure polysaccharidique cristalline en sucres simples ou complexes. Il se pourrait que les grains d'amidon évitent cette digestion, protégés dans des niches du tartre, mais cela n'a pas encore été formellement démontré.

### **2.1.1 Techniques d'analyse des grains d'amidon**

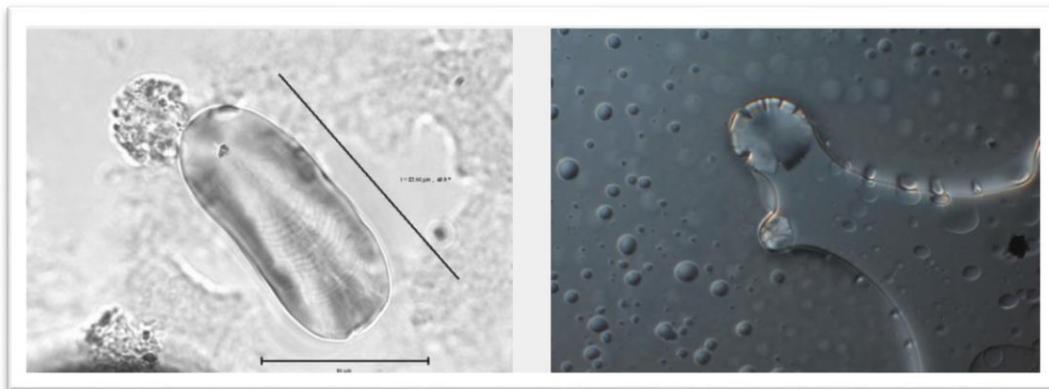
À ce jour, les méthodes standards pour analyser les grains d'amidon présentent le grand inconvénient d'être soumises à une potentielle contamination extérieure. En effet, comme on l'a vu précédemment, les méthodes de prélèvement et de traitement du tartre, en vue d'une analyse optique, impliquent d'extraire le tartre mécaniquement et/ou chimiquement de la dent et l'analyser au microscope. C'est le cas dans l'étude de Henry et Piperno analysant des échantillons de tartre issus de restes humains retrouvés en Syrie et datant d'il y a 3.000 ans<sup>19</sup>. Dans cette étude souvent citée, les auteurs mettent en évidence la présence de grains d'amidons, dans les échantillons de tarte étudiés, appartenant aux graines de différentes plantes. Néanmoins aucun grain d'amidon de blé n'a été détecté. Cette découverte est surprenante car elle suggère que les céréales constituaient

---

<sup>19</sup> Henry et Piperno, « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet ».

seulement une faible portion du régime alimentaire de ces individus. Or l'orge et le blé produisent beaucoup de grains d'amidon. S'ils faisaient parti intégrante du régime alimentaire de ces individus ils auraient été facilement détectés. Cette constatation s'accorde avec les données des archéologues sur le site : les habitants de Tell al-Raqai produisaient et stockaient les céréales pour les exporter et non les consommer.

D'autres études ont proposé la possibilité d'étudier l'activité enzymatique de l'alpha amylase sur des échantillons de tartre prétraités afin de vérifier ou non la présence de grains d'amidon<sup>20</sup>. La limitation de cette technique réside dans le fait que les échantillons ne sont exploitables qu'une seule fois. En effet après digestion enzymatique les grains d'amidon sont détruits.

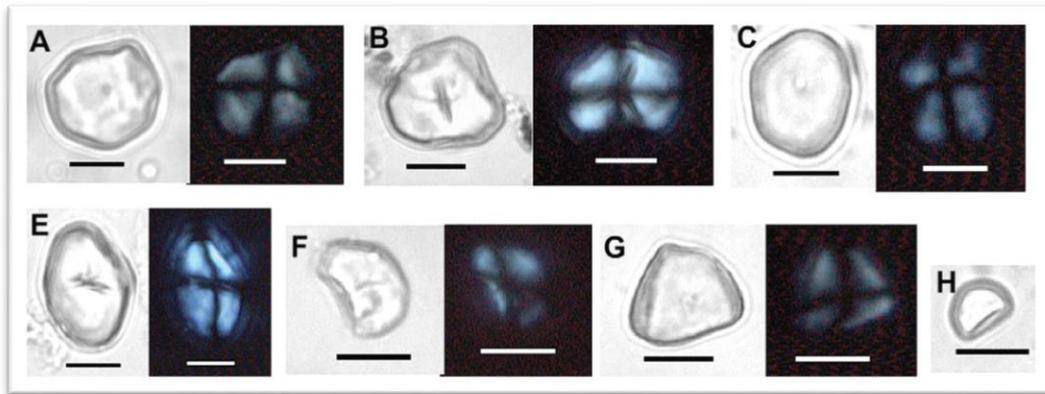


**Figure 9 : Grains d'amidon retrouvés dans du tartre humain, grain intact à gauche et grain abîmé à droite.**

Source : Hardy et al., « Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet ». 2009.

---

<sup>20</sup> Hardy et al., « Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet ».

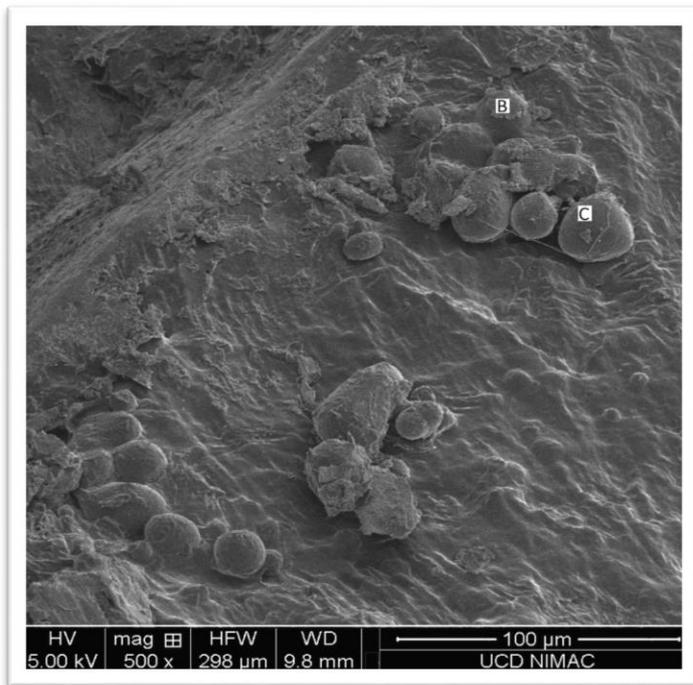


**Figure 10 : Grains retrouvés dans du tartre humain. Grains d'amidon intacts et identifiables (A à G) et un grain non identifié (H).**

Source : Hardy et al., « Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet ». 2009.

Une manière plutôt fiable de détecter les grains d'amidons est d'appliquer de l'eau iodée (IKI ; solution aqueuse d'iode et de iodure de potassium) qui vient fixer les molécules d'amylose et les colorer. Malheureusement cette méthode a l'inconvénient de colorer temporairement les grains rendant leur analyse plus complexe. De plus il est peu pratique d'appliquer la solution sur une matrice de tartre intacte car les grains d'amidon sont protégés. L'étude de Power et collaborateurs en 2013 propose une analyse au microscope électronique à balayage (SEM) couplée à la technique EDX (énergie dispersive rayons X spectroscopie) afin d'identifier des grains d'amidon<sup>21</sup>. Cette étude analyse des échantillons de tartre prélevés sur des restes humains retrouvés en Espagne sur un site datant de plus de 2.500 ans. L'avantage de cette technique est de ne pas être destructive et de préserver les grains. L'apport de l'EDX permet de faire la différence entre les grains d'amidon intacts et ceux qui ont été hydrolysés dans la salive.

<sup>21</sup> Power et al., « Assessing use and suitability of scanning electron microscopy in the analysis of micro remains in dental calculus ».



**Figure 11 : Image du microscope électronique montrant un groupe de grains**

Source: Power et al., « Assessing use and suitability of scanning electron microscopy in the analysis of micro remains in dental calculus». 2014

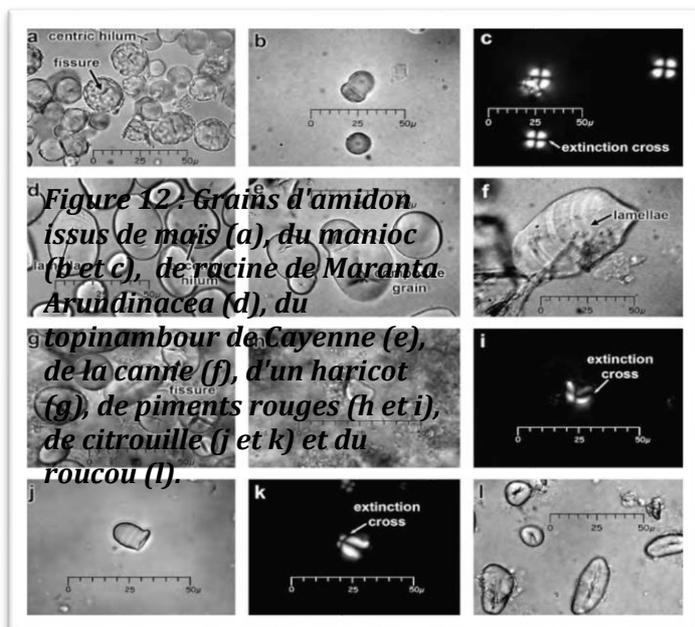
Cette étude est la première à confirmer que l'amidon peut être préservé dans le tartre et, par conséquent, être une source fiable d'informations sur le régime alimentaire des individus. En effet les auteurs ont analysé et comparé les grains d'amidon présents dans le tartre humain et celui de chimpanzés. Les résultats montrent que chez les humains il y a des grains d'amidon provenant d'aliments cuisinés ce qui n'est pas le cas chez les singes.

### **2.1.2 Identification des grains d'amidon**

Dans le contexte archéologique, les grains d'amidons sont identifiés sur la base de leurs tailles et leurs formes. On utilise pour cela des colorants<sup>22</sup> et, grâce aux propriétés biréfringentes des grains d'amidon, une observation au microscope sous une lumière polarisée est réalisable.

---

<sup>22</sup> Pearsall, *Paleoethnobotany*.



Source : Pearsall, Paleoethnobotany. 2015

Dans l'étude menée par Veronica Wesolowski et collaborateurs publiée en 2010<sup>23</sup>, les auteurs mettent en évidence le fait que la taille des échantillons de tartre variait d'un site à l'autre et que les échantillons les plus volumineux avaient les concentrations en microfossiles les plus faibles. Cela suggère que certains individus formeraient du tartre plus rapidement que d'autres. Chez ces individus la quantité de microfossiles est amoindrie de par l'accumulation des minéraux de la salive. Ce résultat est en accord avec des études cliniques qui font le lien entre une forte consommation de viande et une plus grande vitesse de formation du tartre. Ce constat est une complication potentielle et un biais pour la comparaison d'un site à un autre. En effet le régime et la physiologie orale n'affectent pas seulement la vitesse de formation du tartre mais aussi la concentration en microfossiles au sein même des échantillons de tartre. Enfin on notera que les variations sur le contenu en grains d'amidon du tartre d'un individu à l'autre ne résultent pas seulement d'une différence d'alimentation mais aussi d'une différence génétique. En effet il y a une différence d'un individu à l'autre sur le nombre

<sup>23</sup> Wesolowski et al., « Evaluating microfossil content of dental calculus from Brazilian sambaquis ».

de gènes codant pour l'amylase salivaire (AMY1). Ils varient de façon considérable à l'intérieur de l'espèce humaine. Perry et collaborateurs ont découvert en 2007 que les populations ayant une alimentation riche en amidon possédaient plus de copie d'AMY1 que ceux qui n'en consommaient pas ou peu. Cela signifierait que le régime alimentaire riche en amidon exercerait une pression positive sur l'augmentation de l'héritage en gène AMY1.

Il faut ajouter à ce biais, la difficulté de préservation de l'amidon dans le tartre ; du fait que les grains d'amidon qu'on retrouverait dans le tartre archéologique pourrait être d'une provenance moderne, conséquence d'une possible contamination lors de la manipulation des échantillons. En effet, beaucoup de ces grains sont présents à l'air libre, dans l'eau, et sur les surfaces, ce qui augmente considérablement la probabilité d'une contamination environnementale lors de ces études.

## **2.2 Phytolithes**

Les phytolithes ou phytolithaires constituent une famille de microfossiles dont le diamètre varie entre 2 et 100  $\mu\text{m}$ <sup>24</sup>. Ce sont des microfossiles qu'on retrouve dans les cellules végétales, conservés grâce à des concrétions minérales qui ont précipité. Les plantes captent les éléments minéraux du sol nécessaires à leur croissance via leurs racines et des organismes symbiotiques (bactéries, champignons) dans le sol ou dans l'eau. Certains de ces éléments sont présents de manière surabondante par rapport aux besoins de la plante, ils cristallisent alors en formant des phytolithes ; c'est le cas de la silice. La silice se solidifie dans les tissus de la plante, soit à l'intérieur de la cellule végétale (intracellulaire) soit à l'extérieur (en extracellulaire) en adoptant des tailles et des formes différentes en fonction du tissu et de la plante concernée.

---

<sup>24</sup> Rovner, « Plant opal phytolith analysis ».

Certaines familles de plantes comme les *Poaceae*, les *Cyperaceae* et les *Equisetaceae* sont particulièrement riches en contenu phytolithaire alors que d'autres comme les *Leguminosae*, les phytolithes y sont rares. Les phytolithes proviennent donc de l'accumulation et de la cristallisation de minéraux présents en surdensité dans la plante :

\* silice (sous forme d'opale  $\text{SiO}_2$  ou de d'opale-A ( $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ))

\* cristaux d'oxalate de calcium ( $\text{CaC}_2\text{O}_4$ )

Par conséquent certains phytolithes acquièrent une morphologie comparable à celle de la cellule dans laquelle ils précipitent, ce qui leur confère une valeur taxonomique. Cependant il faut souligner que la redondance (existence de différentes plantes avec une morphologie de phytolithes similaires) et la multiplicité (plusieurs phytolithes différents dans la même plante) sont les limitations de cette taxonomie.

Les phytolithes contiennent donc une mémoire de la végétation dont ils proviennent. Les chercheurs les ont utilisés pour étudier la flore, les écosystèmes ou les paléoclimats des couches archéologiques ou de contextes anciennement lacustres. Ils sont un des outils les plus précis dont disposent les chercheurs pour reconstituer l'histoire environnementale (quand on les trouve associés à des foyers préhistoriques par exemple), et donnent des indications d'intérêt paléogéographique. À partir des différents aspects de ces phytolithes, il est possible d'identifier le type de végétation dont ils sont issus. Ils aident notamment à confirmer la nature plus ou moins anthropisées ou cultivées de couches anciennes de sites archéologiques, ce que cultivaient, mangeaient ou transportaient (comme plantes) nos ancêtres. Leur état de conservation est source d'indice pour la période archéologique concernée.

### **2.2.1 Techniques d'analyse des phytolithes**

Les différentes études qui portent sur l'analyse des phytolithes sont sensiblement les mêmes que celles qui concernent l'analyse des grains

d'amidons. En effet, la plupart combinent l'analyse de ces deux microfossiles. On remarque d'ailleurs dans ces études que dans le tartre humain on retrouve davantage d'amidons que de phytolithes<sup>25</sup>. Cependant, il y a eu quelques recherches dont l'objectif était vraiment ciblé sur l'analyse et l'identification des phytolithes : c'est le cas de l'étude menée par Carles Lalueza Fox et collaborateurs en 1996 sur des échantillons de tartre prélevés sur des individus provenant d'une nécropole en Espagne <sup>26</sup>. Ce site archéologique situé à Tarragona, était une ville marchande de l'empire romain datant de l'an 300 après JC jusqu'à l'an 550 après JC. Les auteurs mettent en évidence la présence des phytolithes surtout sur les faces linguales et vestibulaires et leurs quasi absence sur les faces occlusales. Cela est probablement dû au fait que les contacts dento-dentaires empêcheraient la préservation des particules de silice. Sur les faces vestibulaires le biofilm semble avoir un turn-over plus lent que sur les face occlusales<sup>45</sup> ce qui expliquerait que les phytolithes puissent y rester intacts pour de longues périodes. Plusieurs phytolithes présents dans différentes céréales ont pu être mis en évidence mais leurs identifications précises s'est révélée compliquée.

### **2.2.2 Limitations de l'étude menée par Lalueza-Fox**

Tous les échantillons de cette étude présentent des traces de silice. Cependant, bien que les phytolithes à base de silices aient pu formellement être identifiés, la plupart n'ont pas pu être classés dans les différentes familles de phytolithes. Et cela pas uniquement à cause d'un problème de taxonomie mais aussi à cause des changements morphologiques post mortem de ces particules. Les phytolithes à la surface de l'émail peuvent être physiquement altérés par la nourriture ingérée suite à leurs fixations. De plus, différents facteurs comme le pH et la température peuvent modifier la solubilité des phytolithes altérant ainsi leurs caractéristiques post mortem.

---

<sup>25</sup> Fox et Pérez-Pérez, « Cutmarks and post-mortem striations in fossil human teeth ».

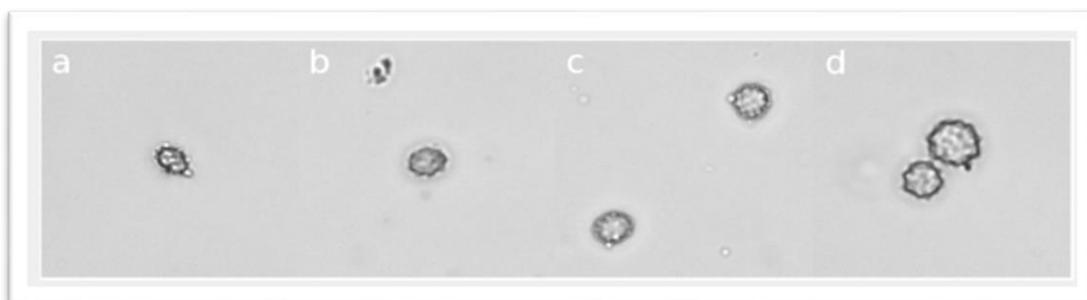
<sup>26</sup> Fox, Juan, et Albert, « Phytolith analysis on dental calculus, enamel surface, and burial soil ».

Le travail de recherche le plus pertinent sur l'analyse des phytolithes semble être celui réalisé par Amanda Henry et ses collaborateurs en 2011<sup>27</sup>. Dans cette étude, les échantillons de tartre ont été prélevés sur des cadavres d'hommes de Neandertal provenant de deux sites archéologiques différents :

- Shanidar III en Iraq
- Spy I et II en Belgique

*Note : L'Homme de Neandertal a vécu entre 300.000 à 28.000 ans avant notre époque et peut-être plus anciennement encore.*

L'objectif de cette étude était d'apporter des réponses sur les raisons de la disparition de cette branche de l'évolution humaine. En effet les causes à l'origine de leurs disparitions, suivies de l'apparition des hommes modernes sont encore à ce jour méconnues. Plusieurs chercheurs estiment que les hommes de Neandertal étaient incapables d'acquérir autant de calories que l'homme moderne dans un même environnement. Cette différence de régime alimentaire serait à l'origine de leur disparition. Dans cette étude, les microfossiles présents dans les échantillons de tartre ont été recherchés et analysés. Les résultats obtenus suggèrent que les hommes de Neandertal avaient un régime alimentaire riche en plantes et varié. Certaines de ces plantes consommées paraissent même avoir été cuisinées.



**Figure 13 : a) Phytolithes de datte (*Phoenix*) issus d'un individu de Shanidar III. Ces phytolithes correspondent respectivement: b) au fruit, c) la tige et d) la feuille. La figure montre que la concordance entre a) et b).**

---

<sup>27</sup> Henry, Brooks, et Piperno, « Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium) ».

Source : Henry, Brooks, et Piperno, « Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium) ».

Le nombre de phytolithes retrouvés dans cette étude est moindre comparé au nombre de grains d'amidon. Cependant 16 des 20 phytolithes retrouvés appartiennent aux fruits du dattier palmier (Phoenix). Il n'a pas été possible de différencier les phytolithes au sein même de l'espèce Phoenix, néanmoins ce résultat met en évidence que les dattes faisaient partie du régime alimentaire des hommes de Neandertal. Il convient aussi de noter que les grains d'amidon d'orge et de légumes ont été retrouvés dans les échantillons. Or ces aliments ne sont pas récoltés à la même saison que les dattes. Ce constat suggère que les hommes de Neandertal de Shanidar pratiquaient plusieurs récoltes saisonnières. L'ensemble de ces informations a permis de démontrer que, non seulement les hommes de Neandertal avaient une alimentation variée, mais qu'ils avaient des comportements alimentaires complexes alliant la chasse et la récolte ainsi que le traitement d'une large gamme de plantes.

L'analyse des granules d'amidon et des phytolithes dans le tartre dentaire est une méthode relativement nouvelle pour répondre aux questions sur la présence ou non de plantes spécifiques dans un régime alimentaire. Bien que cette méthode ne permette pas de mettre en évidence les différences de régime entre individus, les grains d'amidon et phytolithes retrouvés dans le tartre dentaire permettent l'identification du taxon d'appartenance de la plante consommée. Donc, cette analyse du tartre peut être utilement complétée par d'autres méthodes de reconstruction du régime alimentaire comme l'analyse d'isotopes stables et les études des micro et macro usures de la dent. Seront ainsi étudiées différentes catégories de plantes et leurs propriétés mécaniques.

La compréhension des régimes alimentaires anciens est un élément clé dans les études de la préhistoire même si souvent il y a très peu de preuves directes ayant survécu jusqu'à nos jours. Mais jusqu'ici, à peu

d'exceptions près, la reconstitution du régime alimentaire préénéolithique a surtout été basée sur l'étude de la consommation de viande et de poisson au détriment des végétaux. Pourtant, il y a des preuves abondantes de la présence d'amidon sur les sites préagricoles de l'Europe et du Proche Orient<sup>28</sup>.

Le développement des études sur les composés chimiques et microfossiles extraits des échantillons de tartre dentaire et analysés aux microscopes contribue à équilibrer l'interprétation du régime préagricole. En effet jusqu'ici la viande et les protéines semblaient dominer la palette de l'alimentation de ces populations préagricoles. Les études sur les plantes ingérées présentes dans le tartre, vont augmenter, voire révolutionner notre perception sur la connaissance écologique et l'utilisation de plantes parmi les populations préhistoriques et préagricoles<sup>29</sup>.

---

<sup>28</sup> Weiss et al., « Small-grained wild grasses as staple food at the 23 000-year-old site of Ohalo II, Israel ».

<sup>29</sup> Buckley et al., « Dental calculus reveals unique insights into food items, cooking and plant processing in prehistoric central Sudan ».

	-80 0000	-30 0000	-12 000	+1500	
	Australo-pithèques	Premiers Hommes	Paléolithique moy. et sup.	Protohistoire et Histoire	Aujourd'hui
	Plantes tubercules, racines...	Plantes tubercules, racines...	Plantes tubercules, racines...	Plantes tubercules, racines...	Légumes, fruits, peu de fibres végétales
			(selon le climat)	Céréales et pain	Céréales et pain
				Produits laitiers	Produits laitiers (acide gras saturés)
	Insectes	Viande (charronnage et chasse)	Produits carnés (chasse et pêche)	Produits carnés, élevage, chasse, pêche	Viande (acides gras saturés) et poisson
	Petits animaux				

**Figure 14 : Tableau représentant l'évolution des régimes alimentaire de la préhistoire à aujourd'hui.**

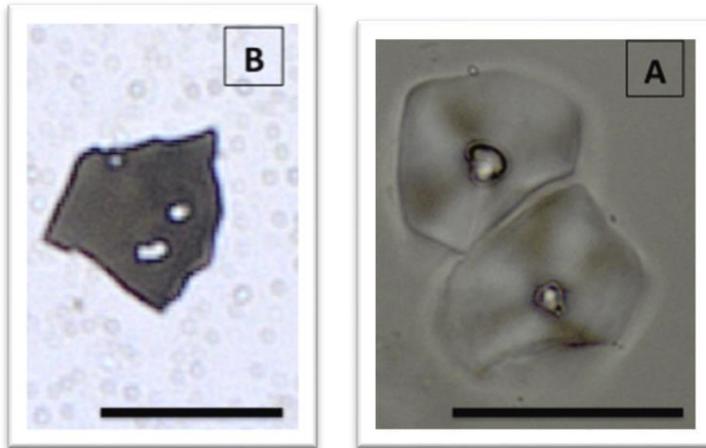
Source : adapté de Delluc, « Hominidés.com ».

## **2.3 Pollen, diatomées et spores fongiques**

Au même titre que les grains d'amidons et les phytolithes d'autres microfossiles peuvent être emprisonnés dans la matrice du tartre. Bien que moins fréquemment rencontrés, et par conséquent étudiés, il semble important de les mentionner dans ce travail de revue de littérature. La première étude dont on va discuter est une étude récente menée par Karen Hardy parue en 2016. Cette étude porte sur l'analyse de particules volatiles retrouvées dans des échantillons de tartre appartenant à des restes humains découverts dans une grotte en Israël, datant de 420.000 ans à 200.000 ans avant Jésus Christ<sup>30</sup>. Après prélèvement et traitement des échantillons ;

<sup>30</sup> Hardy, et al. « Dental calculus reveals potential respiratory irritants and ingestion of essential plant-based nutrients at lower palaeolithic Qesem cave Israel ».

l'analyse optique révèle la présence de micros fragments de charbon de bois (5 à 60 µm) et des grains de pollen.



**Figure 15 : Charbon de bois (à gauche) et grain de pollen de pin (à droite) retrouvés dans des échantillons de tartre appartenant à des restes datant de 420.000 ans à 200.000 ans avant J.C.**

Source : Hardy, et al. « Dental calculus reveals potential respiratory irritants and ingestion of essential plant-based nutrients at lower palaeolithic Qesem cave Israel ». 2016

Bien que la présence de ces particules de charbon pourrait aussi résulter d'une ingestion d'aliments cuits au feu, leurs petites tailles suggèrent d'avantage une inhalation accidentelle. Ces résultats combinés aux informations sédimentaires et micromorphologiques relevées sur le site semblent indiquer qu'une atmosphère « enfumée » devait régner dans la grotte. Les grains de pollens qui ont été retrouvés dans le tartre suggèrent que des arbres appartenant à la famille des pins peuplaient les environs de la grotte. La reconstitution des habitudes des hominidés du paléolithique inférieur est un défi pour la communauté scientifique. Cette découverte, permet de réaliser un grand pas sur la connaissance des conditions de vie à l'intérieur et l'extérieur de la grotte pendant cette période. La maîtrise du feu est considérée comme un tournant crucial dans le développement de la lignée humaine, aussi bien d'un point de vue social que physique.

Une deuxième étude intéressante portant sur ces autres particules a aussi été publiée en 2016. C'est un travail mené par l'équipe de Daniel King sur des échantillons de tartre retrouvés sur des restes humains dans un site

archéologique au Mexique recouvrant la période de 1450 ans à 700 ans avant JC <sup>31</sup>. 110 échantillons de tartre ont été analysés. La majorité des microfossiles récupérés sont des grains d'amidons. Néanmoins des diatomées (micro algues unicellulaires à exosquelette de silice), des spores fongiques, et des particules de pollen ont été retrouvées dans les échantillons :

- *Aulocoseira* est une diatomée qu'on retrouve dans des eaux douces comme les lacs et les étangs. Elle a pu se retrouver dans la nourriture lors de la préparation, ou provient directement de l'eau bue. Bien que la présence de diatomée ne soit pas forcément surprenante, cela suggère un approvisionnement en eau potable spécifique d'un même étang. (Les diatomées étant spécifiques d'un site très localisé).

- Des spores du charbon de blé (maladie fongique du blé) ont été retrouvées dans 6% des échantillons. Le blé est connu pour être un aliment qui était consommé par ces populations américaines dans le passé.

- Des grains de pollen ont été retrouvés dans 9% des échantillons. On y retrouve beaucoup de grains de la famille des pins. Un arbre qui pousse dans les forêts des montagnes de la Sierra Madre dans l'ouest du Mexique. L'ingestion de ces grains s'est probablement faite de manière involontaire, la présence de pollen dans ces zones étant ubiquitaire.

De plus, il est intéressant de relever que, malgré la grande quantité de grains d'amidon de maïs retrouvés dans cette étude, aucun phytolithe n'a pu être observé.

### **3. Analyse d'un cas particulier : Des fibres de coton piégées dans le tartre**

Afin de clore cette section, il convient de citer une étude qui a mené à une découverte des plus étonnantes. L'équipe de Blatt en 2011 a mis en

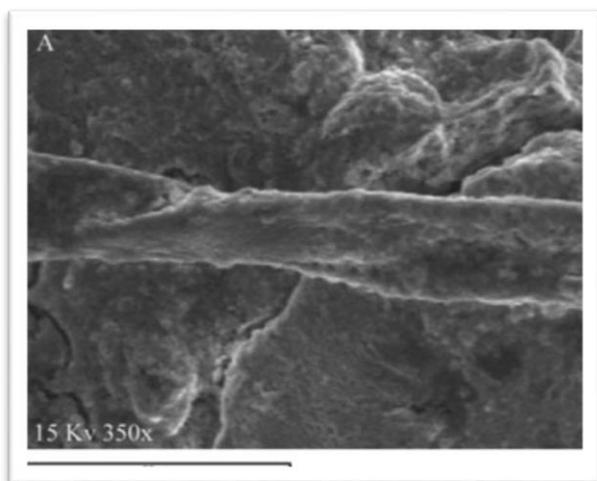
---

<sup>31</sup> King, Searcy, et Waller, « Plant microfossils recovered from dental calculus at Casas Grandes, Mexico ».

évidence la présence de fibres de coton piégées dans le tartre<sup>32</sup>. Ce travail a été réalisé sur des échantillons de tartre prélevés sur un site archéologique, Danbury, dans l'état de l'Ohio aux États-Unis. Grâce à des techniques de spectroscopie de masse réalisées sur le collagène des os des différents individus, il a été possible de dater la période à laquelle ils ont vécu : entre 880 ans et 1.020 ans avant Jésus Christ. Les échantillons ont été prélevés sur un total de 20 dents appartenant à 8 individus. Après une préparation qui respecte les techniques citées plus haut, les échantillons ont été analysés au microscope électronique à balayage. Plusieurs éléments ont pu être identifiés sur les images issues du MEB : des bactéries fossilisées, des structures minérales de calcium phosphate, un nombre important de phytolithes identifiables et non identifiables, différents grains d'amidon, des fibres non identifiables et enfin des fibres identifiées comme étant des fibres de coton. Ces dernières poussent comme des cellules allongées sur le tégument des graines de coton, on les appelle des poils de coton. Le poil de coton jeune est cylindrique, à maturité le cytoplasme disparaît, les parois s'effondrent et le poil se vrille. La fibre de coton adopte alors une structure caractéristique et facilement reconnaissable : elle se présente sous la forme d'un ruban aux bords surélevés, avec peu de sinuosités.

---

<sup>32</sup> Blatt et al., « Dirty teeth and ancient trade ».



**Figure 16 : Image au MEB représentant une fibre de coton piégée dans le tartre.**

Source : Blatt et al. « Dirty teeth and ancient trade ». 2011

La morphologie de ces fibres de coton est similaire à celle qu'on peut retrouver dans les fibres du sud ouest des États-Unis. D'un point de vue historique le coton dans le sud ouest était commercialisé brut, sous forme de fil ou sous forme manufacturée (textiles etc). Néanmoins les données archéologiques suggèrent que c'est sous sa forme brute qu'il était le plus commercialisé<sup>33</sup>. Les données historiques et archéologiques suggèrent qu'il existait un complexe de commerce de coton entre le sud ouest des États-Unis et Danbury. La manière dont les fibres de coton ont été piégées dans le tartre est à ce jour encore méconnue bien que des hypothèses sur le sujet existent. Des études portant sur l'ouest du Grand Bassin (Great Basin) suggèrent que les populations de cette époque utilisaient leurs dents comme outil de tissage<sup>34</sup> (textiles, cordes ou encore filets de pêche). Cette hypothèse est d'autant plus probable qu'aucun outil destiné à travailler le coton n'a été retrouvé sur le site de Danbury. Enfin des pendentifs réalisés avec des coquillages et du coton ont été retrouvés sur le site. Pour conclure ce qui est certain c'est que le coton retrouvé sur le site de Danbury n'est pas originaire

---

<sup>33</sup> Teague et Teiwes, *Textiles in southwestern prehistory*.

<sup>34</sup> Larsen, « Dental modifications and tool use in the western Great Basin. »

d'Ohio mais qu'il a été introduit du sud ouest des Etats-Unis via des commerces dont on ne connaît pas les voies.

## **Partie IV : Analyse isotopique**

L'analyse à l'aide d'isotopes stables comme le carbone 13 ou l'azote 15 ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) est devenue une technique commune en bio-archéologie dans le cadre de la reconstitution des régimes alimentaires<sup>35</sup>. Elle peut être appliquée sur des os, des dents, des cheveux etc. Cependant elle demeure une technique destructive (les échantillons étant consommés pendant l'analyse). Pour cette raison elle est souvent interdite pour des raisons éthiques ou simplement de préservation des pièces archéologiques. C'est pourquoi une fois de plus le tartre s'est retrouvé être un objet d'étude intéressant. Il n'est pas considéré comme matériel biologique « primaire » car ce n'est pas une partie inhérente du squelette. Par conséquent, prélever des échantillons de tartre sur les dents, en vue d'une analyse isotopique peut être considéré comme une technique non destructive.

### **1. Prélèvement et préparation des échantillons**

Bien qu'il existe peu d'études sur le sujet, elles respectent un protocole similaire. L'étude menée par Scott et Poulson en 2012 est la première étude répertoriée dans la littérature scientifique ayant analysé des échantillons de tartre par la technique d'analyse isotopique<sup>36</sup>. Le prélèvement des échantillons de tartre sur les sites est sensiblement le même que pour l'analyse optique. Cependant, la préparation diffère. En effet pour l'analyse

---

<sup>35</sup> Schoeninger, « Stable isotope evidence for the adoption of maize agriculture ».

<sup>36</sup> Scott et Poulson, « Stable carbon and nitrogen isotopes of human dental calculus ».

isotopique, les échantillons de tartre sont nettoyés à l'eau distillée et séchés à 50 degrés celsius. Ils sont ensuite pilés, réduits à l'état de poudre. Des échantillons de 1,5 mg à 8 mg sont utilisés pour chaque analyse.

## **2. La technique d'analyse**

La technique d'analyse à proprement parlé combine une analyse élémentaire à une spectroscopie de masse suivant un protocole et une méthode mise au point par Werner et collaborateurs en 1999<sup>37</sup>. La présence de composés organiques riches en carbone et en azote (acides aminés, protéines, glycoprotéines) au sein du tartre rend possible l'analyse isotopique  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ . Cette première étude menée par Scott et Poulson en 2012 avait pour objectif de valider cette technique. Les résultats ont montré la présence suffisante de carbone et d'azote dans le tartre pour rendre l'analyse isotopique significative.

Un an plus tard, en 2013, Poulson et collaborateurs ont réalisé un travail sur 35 échantillons de tartre prélevés sur des restes humains dans le nord du Chili datant de 2.500 à 500 avant J.C<sup>38</sup>. Les résultats de cette étude mettent en évidence la présence, en très forte quantité de  $\delta^{15}\text{N}$ . Cette forte concentration d'azote dans les échantillons de tartre étudiés a ouvert la porte à plusieurs hypothèses :

- Les populations passées peuplant cette région avaient un régime alimentaire « marin » important, associé à une alimentation terrestre riche en viandes et plantes. Ces données coïncident avec des preuves archéologiques de l'émergence de l'agriculture dans cette région<sup>39</sup>.

---

<sup>37</sup> Werner, Bruch, et Brand, « ConFlo III : an interface for high precision d13C and d15N analysis with an extended dynamic range ».

<sup>38</sup> Poulson et al., « Paleodiet in northern Chile through the Holocene ».

<sup>39</sup> Ovalle, « El período formativo en los valles del norte de Chile y sur de Perú ».

- L'environnement aride. En effet il a été montré pour les plantes, les animaux et les humains qu'une faible teneur en  $\delta^{15}\text{N}$  correspondait à une année peu pluvieuse<sup>40</sup>.

Malheureusement ces résultats n'expliquent pas une valeur supérieure à 20% en  $\delta^{15}\text{N}$  relevée lors de l'analyse sur 14 des échantillons. La seule explication qui justifierait une teneur en  $\delta^{15}\text{N}$  aussi élevée serait l'ingestion de plantes ayant une teneur  $\delta^{15}\text{N}$  extrêmement élevée. Or la seule manière des plantes pour acquérir une teneur en  $\delta^{15}\text{N}$  aussi importante en milieu aride c'est de l'acquérir du guano (qui est l'excrément des oiseaux marins). L'utilisation de guano comme fertilisant agricole permet d'ouvrir un axe de recherche intéressant sur les méthodes et techniques agricoles que pouvaient employer ces populations d'Amérique du sud 2.000 ans avant J.C.

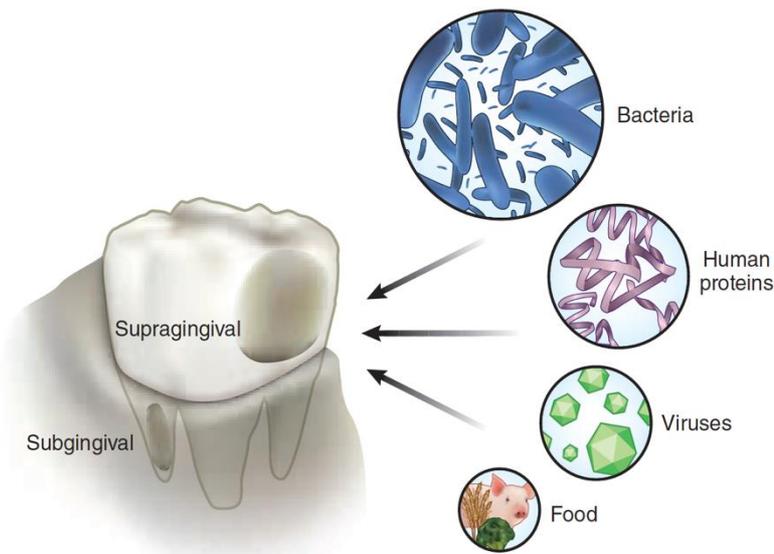
La cinquième partie de ce mémoire sera consacrée aux études récentes qui s'intéressent au tartre en tant que source d'ADN ancien (ADNa). Ces études impliquent des techniques de séquençage de cet ADN. Sans entrer dans les détails techniques, on présentera ici le type de recherche qui a été effectué avec des exemples et les différentes connaissances que nous pouvons acquérir à travers l'utilisation de cette approche, très puissante.

## **Partie V : Analyse ADN des dépôts tartriques**

---

<sup>40</sup> Handley et al., « The  $^{15}\text{N}$  natural abundance ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of ecosystem samples reflects measures of water availability ».

Le tartre trouve à ce jour une place centrale dans les études anthropologiques modernes car, par le biais de l'ADN qu'il contient, il nous renseigne sur l'environnement et le régime alimentaire de l'individu étudié. Il nous livre aussi des informations sur les possibles infections bactériennes dont il a été victime et enfin, sur l'individu en lui-même puisque son propre ADN et ses protéines sont présentes dans les échantillons isolés.



**Figure 17 : La plaque dentaire piège des bactéries orales (99%), des protéines humaines, des virus, des aliments, et préserve leurs ADN.**

Source : Metcalf et al., « Ancient human oral plaque preserves a wealth of biological data. » 2014.

L'étude de l'ADN ancien (ADNa) a été majoritairement réalisée à travers l'analyse des os et de la dentine. Cependant il y a plusieurs cas dans lesquels ces tissus ne sont pas facilement disponibles. D'une part, il n'est pas toujours possible d'obtenir l'autorisation pour effectuer des analyses destructives sur un squelette humain, notamment pour des raisons culturelles et/ou religieuses mais plus important encore, il est fréquent que les restes ne soient pas suffisamment bien préservés. Des méthodes d'extraction non destructives ont été développées pour la récupération de l'ADN nucléaire et mitochondrial sur des échantillons en provenance de musées et des spécimens archéologiques. Ces méthodes sont essentiellement basées sur l'extraction d'ADN à partir de la surface des dents, des os et de la peau. Mais, les problèmes liés à la mauvaise préservation de l'ADN ainsi qu'aux contaminations, rendent difficile l'obtention des

informations à partir de ce matériel. Il est donc apparu urgent d'identifier de nouvelles sources et méthodes afin d'obtenir de l'ADNa, utile pour la recherche en paléobiologie.

Récemment, le tartre s'est révélé être une source abondante et ubiquitaire d'ADNa, très bien préservé. De plus, ce matériel permet d'extraire des quantités d'ADN nettement supérieures à celles obtenues à partir d'autres sources (figure 19). Ainsi le tartre s'est révélé essentiel à l'étude du paléomicrobiome oral.

***Figure 18 : Tartre supra et sous gingival visible sous la forme d'un anneau concave sur une molaire inférieure d'un individu ayant vécu à l'époque médiévale dans le York, Angleterre.***



Source : Weyricha, Dobney, et analysis of dental calculus. »

Cooper, « Ancient DNA 2015.

Échantillon	ADN dans la dentine ng/mg	ADN dans le tartre ng/mg
Modern		
P2 <sup>a</sup>	n.d.	83.4
POK1 <sup>b</sup>	n.d.	346.0
POK2 <sup>b</sup>	n.d.	313.5
Victorian		
FW283T <sup>c</sup>	23.1	13.4
Medieval		
G12 <sup>a</sup>	0.5	44.8
B17 <sup>a</sup>	0.3	437.2
B61 <sup>a</sup>	0.3	5.0*
B78 <sup>a</sup>	0.4	29.8
UK1 <sup>a</sup>	n.d.	226.6*
Anglo-Saxon		
NEM093 <sup>c</sup>	1.3	22.2
Roman Britain		
3DT21 <sup>c</sup>	0.5	15.8
UK2 <sup>a</sup>	n.d.	84.8

**Figure 19 : Rendements comparatifs en quantité entre l'ADN présent dans le tartre et l'ADN présent dans la dentine. Les valeurs sont exprimées en nanogrammes d'ADN par mg de tissu. Les mesures ont été réalisées par spectroscopie. nd: non déterminé; asterix: moyenne.**

Source : Warinner et al<sup>41</sup>.

<sup>41</sup> Warinner, Speller, et Collins, « A new era in palaeomicrobiology ».

# **1. Les études sur le microbiome oral à partir du tartre**

Le microbiome oral et la plaque dentaire en particulier occupent une place importante dans l'histoire de la microbiologie. La première description de la présence de bactéries dans la plaque dentaire a été faite par Antoni van Leeuwenhoek dans une lettre écrite en 1683 à la Royal Society of London dans laquelle il décrit des "très petits animalcules, très nombreux, en mouvement désordonné". Cette présentation de la plaque dentaire sous-estime largement la réalité. En fait, le microbiome oral est la deuxième communauté bactérienne humaine en nombre, après celle de l'intestin.

La première analyse biomoléculaire du tartre fut effectuée en 1996 avec l'objectif d'identifier la bactérie pathogène *Streptococcus mutans* par une approche mêlant des techniques d'immunohistochimie<sup>42</sup>. En 2011, la présence d'ADN dans le tartre dentaire fut confirmée par microscopie électronique avec des anticorps anti-ADN marqués avec des particules d'or. Très rapidement par la suite, en 2012, des études génétiques par des techniques de PCR ciblée ont été réalisées. Ces études ont identifié *S. mutans*, mais aussi d'autres taxa orales telles que *Fusobacterium nucleatum*, *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis* et *Streptococcus gordonii*, ainsi que l'ADN mitochondrial humain<sup>43</sup>.

L'arrivée du séquençage de nouvelle génération de l'ADN, a permis des avancées considérables dans l'étude du microbiome oral à partir du tartre. Deux études remarquables illustrent la quantité et la qualité de l'information qu'on peut obtenir à partir de l'ADN à l'heure actuelle, et sont présentées plus en détail.

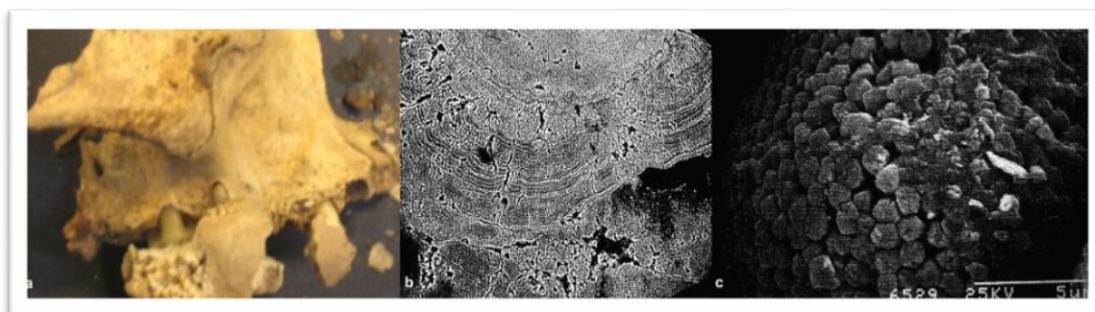
---

<sup>42</sup> Linossier, Gajardo, et Olavarria, « Paleomicrobiological study in dental calculus ».

<sup>43</sup> Adler et al., « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ».

En premier lieu, Grine et collaborateurs nous font remarquer que l'augmentation de la consommation de céréales « domestiquées » (blé et orge dans le Proche Orient) fut associée à une hausse très marquée du tartre et des pathologies orales. Ces dernières incluent les caries et les maladies parodontales ; ces deux types de pathologies ayant été, jusque là, plutôt rares dans les sociétés des chasseurs-cueilleurs du préneolithique<sup>44</sup>. Les lésions carieuses et les maladies parodontales correspondent toutes les deux à des infections poly-microbiennes, censées être la conséquence d'une perturbation du biofilm oral, écologiquement équilibré<sup>45</sup>. Ces perturbations peuvent apparaître à cause des changements de régime alimentaire, en particulier, une augmentation de la consommation de carbohydrates fermentescibles<sup>46</sup>.

L'étude de Adler et collaborateurs fut entreprise dans le but d'établir si cette idée pouvait être corroborée par des analyses du tartre en provenance des individus ayant vécu pendant la période<sup>47</sup>.



**Figure 20 : tartre dentaire de l'échelle macroscopique (a) à l'échelle microscopique à droite (b et c). On voit sur la figure b des lignes de croissance remarquable, grossissement x50. Et sur la figure (c) Une forme ronde correspondant à une bactérie bâtonnet non identifiée, grossissement X3000.**

Source : Adler et al., « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ». 2013.

<sup>44</sup> Grine, Gwinnett, et Oaks, « Early hominid dental pathology ».

<sup>45</sup> Marsh, « Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries ».

<sup>46</sup> Hujuel, « Dietary carbohydrates and dental-systemic diseases ».

<sup>47</sup> Adler et al., « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ».

Des échantillons de tartre supra et sous gingival ont été prélevés à partir des dents de 34 squelettes humains européens datés du Mésolithique au Moyen Âge (11 de sexe masculin, 11 de sexe féminin, 12 de sexe indéterminé, âgés de < 20 à > 60 ans au moment du décès). Les échantillons proviennent des derniers chasseurs-cueilleurs de Pologne, des agriculteurs les plus anciens d'Europe Centrale (culture Rubanée), de la fin du Néolithique (Culture campaniforme), de la fin de l'Âge du Bronze et des individus de la population rurale et urbaine du Moyen Âge. L'ADN a été extrait à partir des échantillons de tartre stérilisés au préalable. Des analyses de l'ADN par PCR ciblé ont été effectuées afin d'amplifier 3 régions hypervariables de l'ADN codant pour l'ARN ribosomique 16s.

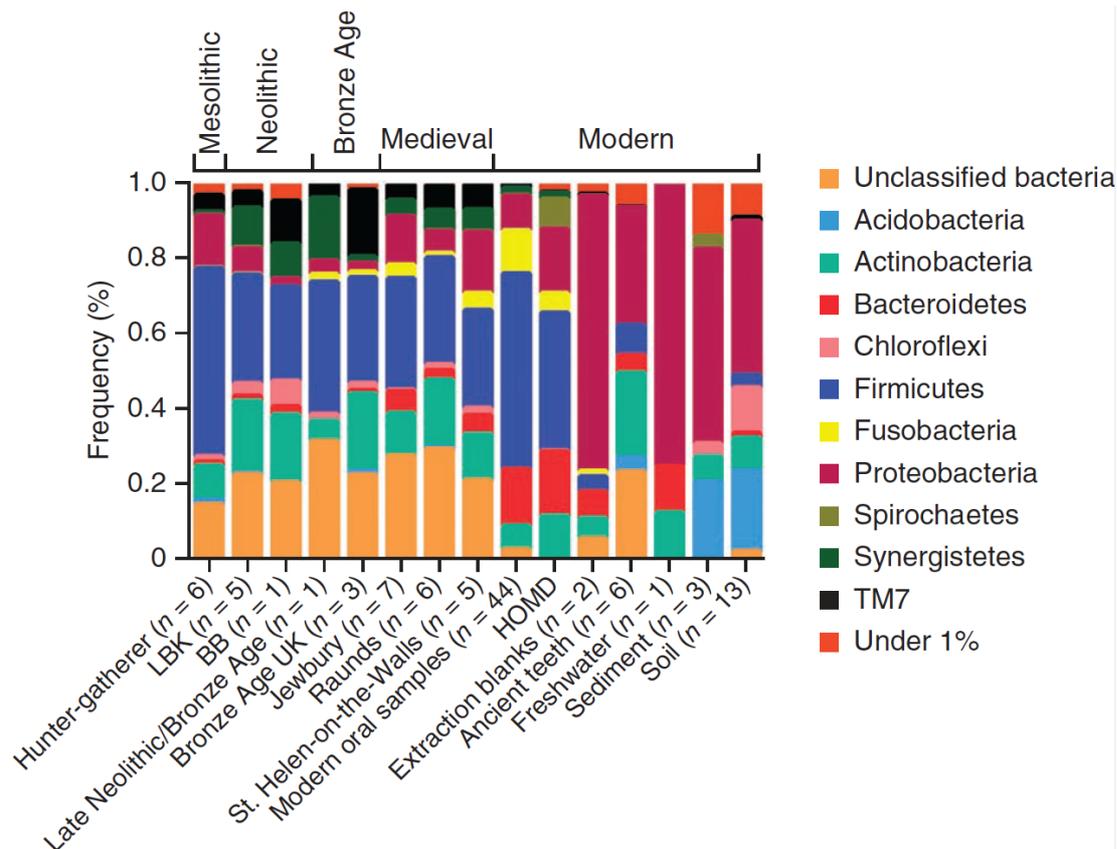
*Note : L'ARN ribosomique 16s est un composant de la petite sous-unité du ribosome des bactéries et il est aussi présent chez les eucaryotes, au niveau des ribosomes mitochondriaux. La séquence d'ADN codant pour cet ARN est utilisée en phylogénie car elle évolue assez lentement et de ce fait, permet d'établir des divergences génétiques anciennes<sup>48</sup>. Le gène codant l'ARN 16s est présent en plusieurs copies sur le chromosome bactérien.*

Les échantillons d'ADNa ont été analysés en parallèle avec des échantillons d'ADN contemporain extraits à partir de tartre (n=6) et de plaque (n=13) prélevés sur des individus vivants. L'ADNa a été aussi préparé à partir des échantillons de la dent ayant servi à obtenir le tartre, afin d'obtenir une estimation de la contribution en ADN bactérien de la contamination environnementale post-mortem. En plus des amorces pour amplification spécifique de l'ADN 16S par PCR, des amorces pour amplifier spécifiquement l'ADN de *Streptococcus mutans* et de *Porphyromonas gingivalis* ont été utilisées, dans le but de détecter les pathogènes oraux dans le tartre ancien. À la suite du séquençage de l'ADN amplifié par PCR, environ 1 million de séquences d'ADN furent obtenues, dont 50% furent éliminées pour des raisons techniques. Après filtrage, 451.000 séquences ont été

---

<sup>48</sup> Woese, « Bacterial evolution ».

soumises aux différents traitements statistiques et analyses phylogénétiques. Dans la composition bactérienne du tartre archéologique le phylum prédominant correspond aux Firmicutes. On retrouve 15 phyla bactériens, détectés le plus souvent dans les échantillons modernes, ainsi que répertoriés dans la banque de séquences Human Oral Microbiome Database (HOMD). La figure n° 22 présentée ci-dessous détaille la composition du microbiome établie dans les différents échantillons.



**Figure 21 : Composition microbienne du tartre ancien.**

Source : Adler et al., « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ». 2013.

**Légende**

- Hunter-gatherer** : Cueilleur chasseur, Mésolithique/Prénéolithique, (7.550-5.450), Dudka, Pologne.
- LBK** : Culture rubanée, Néolithique (7.400-6.725), Halberstadt-Sonntagsfeld, Allemagne.
- BB** : Culture campaniforme, (4.450-4.000) Quedlinburg XII, Allemagne.
- Late Neolithic/Bronze age** : fin du Néolithique/Âge de Bronze (4.350-3.600) Benzingerode-Heimburg, Allemagne.
- Jewbury**: site Haut Moyen Âge, (1.000-400) York, UK.
- Raunds** : Raunds Furnells site, Bas Moyen Âge (1.150-850) Northamptonshire, Angleterre.
- St. Helen-on-the Walls** : site, Haut Moyen Âge (1.000-400) York, Angleterre.
- Modern oral samples** : échantillons contemporains, individus d'ascendance européenne, Adelaide, Australie.

**HOMD** : Human Oral Microbiome Database (base de données du microbiome oral contemporain).

**Extraction blanks** : témoins sans ADN ancien.

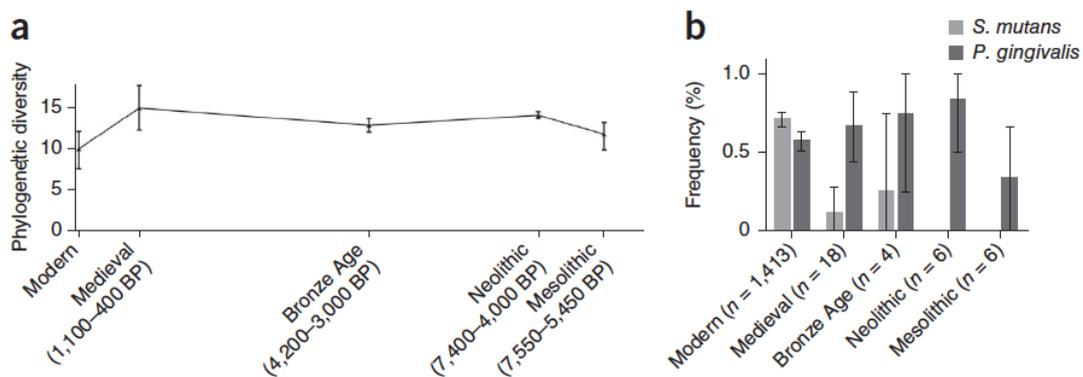
**Ancient teeth** = ADN extrait à partir de la dent ancienne.

**Freshwater** = échantillon témoin (eau fraîche).

**Sediment** = échantillon témoin (sédiment).

**Soil** = échantillon témoin (sol).

Les résultats confirment le fait que la cavité orale a été colonisée depuis très longtemps par une flore bactérienne complexe.



**Figure 22 : Changements au cours du temps de la composition du microbiome oral.**

Source : Adler et al., « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ». 2013.

Le suivi temporel du tartre ancien donne un premier aperçu de la nature et du moment des changements dans la composition bactérienne orale chez l'homme pendant les dernières 7500 années. La composition du microbiome oral subit une modification bien définie avec l'introduction des pratiques agricoles au début de la période Néolithique. Les premiers chasseurs-cueilleurs avaient clairement une population bactérienne où les bactéries associées aux caries et aux maladies parodontales étaient moins présentes par rapport aux premiers agriculteurs. Ce résultat va dans le sens d'études réalisées à partir de squelettes : des travaux qui avaient montré une augmentation significative de la présence de maladies parodontales après transition vers un régime alimentaire agricole, suggérant que ce

changement aurait eu un impact majeur sur l'écosystème oral. Une fois ce changement survenu, on observe une composition qui reste plus ou moins constante jusqu'au Moyen Âge. Une autre transition majeure serait celle de la Révolution Industrielle. En effet, les analyses des échantillons actuels montrent que l'environnement oral d'aujourd'hui est beaucoup moins bio-diversifié et est dominé par des bactéries potentiellement cariogènes.

Dans un deuxième article paru en 2014, Warinner et collaborateurs ont caractérisé de façon détaillée le microbiome oral à partir de biomolécules extraites du tartre de 4 individus adultes ayant vécu dans la période médiévale (900 à 1.200 ans après JC) à Dalheim en Allemagne<sup>49</sup>. Les observations préliminaires montraient que ces sujets étaient tous atteints de maladie parodontale plus ou moins grave. En parallèle, des échantillons de tartre issu de 9 individus contemporains furent analysés par les mêmes approches. Pour ces derniers, l'historique dentaire était connu. L'application, pour la première fois, de la technique du séquençage aléatoire de l'ADN (dite « shotgun sequencing ») sur le tartre de ces individus modernes a montré que l'ADN extrait de ces derniers correspondaient majoritairement à de l'ADN bactérien avec une quantité mineure d'ADN humain, viral et en provenance de champignons. Les données ainsi obtenues permettent une meilleure résolution par rapport aux travaux présentés dans la première partie et qui ont utilisé des approches d'amplification de l'ARN 16S par PCR. L'approche expérimentale plus approfondie du séquençage aléatoire de l'ADN est en effet une technique très puissante. Néanmoins, à titre de contrôle, des expériences de séquençage par amplification PCR ciblée ont été utilisées aussi dans ces travaux, en accompagnement des résultats de séquençage aléatoire. En plus de l'analyse de l'ADN, Warinner et ses collègues ont extrait, analysé et identifié les protéines bactériennes et humaines présentes dans le tartre.

---

<sup>49</sup> Warinner et Rodrigues, « Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity ».

L'ensemble de ces travaux a permis de démontrer que des bactéries pathogènes opportunistes ont fait parties du microbiome oral depuis longtemps. En effet, ces données confirment que la cavité orale a constitué un réservoir de bactéries pathogènes au moins depuis la période médiévale. 40 bactéries pathogènes putatives ont été identifiées, probablement impliquées dans des maladies locales et systémiques et possédant des gènes putatifs de résistance aux antibiotiques. Warinner et ses collègues ont aussi découvert des gènes de virulence bactérienne et des protéines que les bactéries utilisent pour contourner la réponse immunitaire de l'hôte. Les chercheurs ont démontré par ailleurs la présence de facteurs de l'immunité de l'hôte, probablement servant à maintenir les rapports relatifs en nombre, des différentes bactéries au sein de la communauté du microbiome. Ces travaux confirment le rôle à long terme de l'activité immunitaire de l'hôte ainsi que la virulence des pathogènes du « complexe rouge » dans la maladie parodontale. Et cela malgré des changements majeurs de style de vie, et de régime alimentaire durant un millénaire.

Le génome presque complet d'une bactérie pathogène importante, *Tannerella forsythia* a pu être reconstruit à partir de ces données. Dans ce génome reconstruit, on remarque l'absence du gène de résistance à la tétracycline qui se trouve dans le génome de référence moderne de *T. forsythia*. Ce résultat très intéressant, souligne la forte pression évolutive exercée par les antibiotiques sur le microbiome oral moderne. Les analyses de séquence d'ADN aléatoires suggèrent que des gènes de résistance à certains antibiotiques ainsi que les gènes nécessaires pour la mobilité de génétique de ces résistances étaient déjà présents dans l'écosystème oral ancien.

Ces données démontrent que, bien que le potentiel de résistance aux antibiotiques existait déjà pendant la période médiévale, ces gènes de résistance étaient moins répandus parmi les bactéries pathogènes comparé

à de nos jours, probablement du fait que au Moyen Age, les antibiotiques n'existaient pas.

## **2. Méthodologie**

Cette évaluation biomoléculaire du tartre ancien a permis d'obtenir des précisions sur l'état de préservation, sur la taphonomie (discipline qui étudie la formation des gisements fossiles) et sur les contaminations des échantillons de tartre ancien. Une attention particulière est nécessaire pendant l'obtention et la manipulation des échantillons lorsque les techniques d'analyse approfondies de biomolécules sont effectuées. Cela pour éviter toute contamination d'ADN ou protéines modernes, spécialement d'origines humaine et/ou bactériennes. Du fait de la sensibilité de ces techniques, une contamination amènerait inévitablement à des erreurs. En fait, un service dédié à la manipulation de l'ADN ancien de l'Université de Zurich a été utilisé pour les manipulations des échantillons, l'extraction des biomolécules et leurs analyses. Ces études furent complétées, par des analyses spectroscopiques, microscopiques et isotopiques afin de confirmer et fournir le contexte précis pour les résultats d'analyse biomoléculaire. La complexité de ces approches expérimentales a nécessité un nombre important d'équipes participant aux recherches (par exemple, 32 signataires du deuxième article, en provenance d'Allemagne, Danemark, Espagne, États Unis, Suisse et le Royaume-Uni).

## **CONCLUSION**

A travers les exemples discutés dans ce mémoire, on découvre les arguments permettant d'affirmer que le tartre fossilisé constitue un réservoir précieux d'informations hautement intéressantes, accessible aux paléontologues et paléobiologistes. A travers leurs recherches, cette information est compilée et interprétée pour nous renseigner sur les humains ayant vécu dans le passé. En effet, d'après les experts, le tartre dentaire a tout le potentiel pour devenir la source de choix pour les études des restes anciens, capable de nous renseigner sur le régime alimentaire, la santé, les microbes, l'environnement, et peut-être même sur les affinités culturelles d'un individu. Très récemment, l'ADN mitochondrial humain extrait du tartre a permis la reconstitution du génome mitochondrial complet des individus donneurs, indiquant que les études approfondies telles que des études de lignées, peuvent être entreprises avec le tartre comme seul matériel<sup>50</sup>.

Une avancée majeure a été l'étude génomique des microbiomes anciens à partir de l'ADN extrait du tartre fossilisé. D'après le Pr Jessica Metcalf, experte en biologie de l'évolution à l'Université du Colorado : "Les microbes anciens constituent une partie importante du puzzle car il y a très peu d'informations disponibles pour permettre de reconstruire les microbiomes de la période préantibiotique. Nous avons besoin de cette information avant de commencer à manipuler le microbiome humain à des fins thérapeutiques »<sup>51</sup>.

À présent, les études basées sur les résultats du séquençage à haut débit de l'ADN demandent l'implication des nombreux personnels et des moyens coûteux qui ne sont pas à la portée de tous les laboratoires et chercheurs intéressés dans ces thématiques. Pour cette raison j'ai tenu à présenter et discuter différentes approches méthodologiques utilisées. Ces

---

<sup>50</sup> Ozga et al., « Successful enrichment and recovery of whole mitochondrial genomes from ancient human dental calculus ».

<sup>51</sup> Madhusoodanan, « Inner workings ».

travaux montrent qu'il est possible d'acquérir des informations d'une valeur considérable avec un investissement des ressources modeste, grâce en partie, à la richesse et à la qualité de préservation des éléments informatifs contenus dans le tartre, à la facilité relative de préparation des échantillons, à son abondance. Nous pouvons anticiper une augmentation significative de ces études qui se développeront en parallèle avec des études protéomiques et génomiques du microbiome, pour stimuler la recherche archéologique, en particulier, celles concernant la santé et les pathologies des nos ancêtres.

Pour conclure, d'un point de vue éthique, l'utilisation du tartre est un réel atout. En effet chez un bon nombre de cultures, l'utilisation des restes des ancêtres à des fins de recherche est interdite pour cause du caractère sacrée des morts. Il est courant de voir ressurgir la question classique associée aux études archéologiques : à qui appartiennent les restes? ou encore, qui est le propriétaire du passé ? Il y a beaucoup de traités et des publications concernant les sujets éthiques de ce type de recherche, toujours avec le but de dégager des lignes de conduite et de fixer les limites conseillées. Dans ce contexte, la recherche « destructive » impliquant des prélèvements importants de matériel des os et des dents, est particulièrement discutée. Or le tartre, n'est généralement pas considéré comme faisant partie intégrale des restes au même titre que les os et les dents. Ceci ouvre encore d'avantage la porte vers les recherches futures basées sur le tartre.

## **BIBLIOGRAPHIE**

- Adler, C.J, K Dobney, L.S. Weyrich, J Kaidonis, A.W Walker, W Haak, C J. A. Bradshaw, et al. « Sequencing ancient calcified dental plaque shows changes in oral microbiota with dietary shifts of the Neolithic and industrial revolutions ». *Nature genetics* 45, n° 4 (2013): 450-55. doi:10.1038/ng.2536.
- Armitage, P.L. « The extraction and identification of opal phytoliths from the teeth of ungulates ». *Journal of archaeological science* 2, n° 3 (1975): 187-97. doi:10.1016/0305-4403(75)90056-4.
- Blatt, S.H., B.G. Redmond, V. Cassman, et P.W. Sciulli. « Dirty teeth and ancient trade: Evidence of cotton fibres in human dental calculus from Late Woodland, Ohio ». *International journal of osteoarchaeology* 21, n° 6 (2011): 669-78. doi:10.1002/oa.1173.
- Boyadjian, C.H., S. Eggers, et K.J. Reinhard. « Dental wash: a problematic method for extracting microfossils from teeth ». *Journal of archaeological science* 34, n° 10 (2007) : 1622 - 28. doi:10.1016/j.jas.2006.12.012.
- Buckley, S., D. Usai, T. Jakob, A. Radini, et K. Hardy. « Dental calculus reveals unique insights into food items, cooking and plant processing in prehistoric central Sudan ». *PLOS One* 9, n° 7 (2014): e100808. doi:10.1371/journal.pone.0100808.
- Charlier, P., I. Huynh-Charlier, O. Munoz, M. Billard, L. Brun, et G. de la Grandmaison. « The microscopic (optical and SEM) examination of dental calculus deposits (DCD) : potential interest in forensic anthropology of a bio-archaeological method ». *Legal medicine* 12, n° 4 (2012): 163-71. doi:10.1016/j.legalmed.2010.03.003.
- Davies, R.M., R.P. Ellwood, A.R. Volpe, et M.E. Petrone. « Supragingival calculus and periodontal disease. » *Periodontology* 2000 15 (1997): 74-83. doi:10.1111/j.1600-0757.1997.tb00107.x.
- Dobney, K., et D. Brothwell. « A method for evaluating the amount of dental calculus on teeth from archaeological sites ». *Journal of archaeological science* 14, n° 4 (1987): 343-51. doi:10.1016/0305-4403(87)90024-0.
- Fox, C.L., J. Juan, et R.M. Albert. « Phytolith analysis on dental calculus, enamel surface, and burial soil : information about diet and paleoenvironment ». *American journal of physical anthropology* 101, n° 1 (1996) : 101-13.
- Fox, C. Lalueza, et A. Pérez-Pérez. « Cutmarks and post-mortem striations in fossil human teeth ». *Human evolution* 9, n° 2 (1994): 165-72. doi:10.1007/BF02437262.
- Grine, F.E., A.J. Gwinnett, et J.H. Oaks. « Early hominid dental pathology : interproximal caries in 1.5 million-year-old Paranthropus Robustus from Swartkrans ». *Archives of oral biology* 35, n° 5 (1990): 381-86.
- Handley, L.L., A. T. Austin, D. Robinson, C.M. Scrimgeour, J.A. Raven, T. H.E. Heaton, S. Schmidt, et G.R. Stewart. « The  $\delta^{15}\text{N}$  natural abundance ( $\delta^{15}\text{N}$ ) of ecosystem samples reflects measures of water availability ». *Australian journal of plant physiology* 26, n° 2 (1999) : 185-99. doi:10.1071/PP98146.

- Hardy, K. « Dental calculus reveals potential respiratory irritants and ingestion of essential plant-based nutrients at lower palaeolithic Qesem Cave Israel ». *Quaternary international* 398 (2016): 129–135.
- Hardy, K., T. Blakeney, L. Copeland, J. Kirkham, R. Wrangham, et M. Collins. « Starch granules, dental calculus and new perspectives on ancient diet ». *ResearchGate* 36, n° 2 (2009) : 248 - 55. doi:10.1016/j.jas.2008.09.015.
- Henry, A.G., A.S. Brooks, et D.R. Piperno. « Microfossils in calculus demonstrate consumption of plants and cooked foods in Neanderthal diets (Shanidar III, Iraq; Spy I and II, Belgium) ». *Proceedings of the national academy of sciences* 108, n° 2 (2011): 486 - 91. doi:10.1073/pnas.1016868108.
- Henry, A.G., et D.R. Piperno. « Using plant microfossils from dental calculus to recover human diet : a case study from Tell al-Raqa'i, Syria ». *Journal of archaeological science* 35, n° 7 (2008): 1943 - 50. doi:10.1016/j.jas.2007.12.005.
- Hujoel, P. « Dietary carbohydrates and dental-systemic diseases ». *Journal of dental research* 88, n° 6 (2009): 490 - 502. doi:10.1177/0022034509337700.
- Jane, J., L. Shne, L. Wang, et C.C. Maningat. « Preparation and properties of small particle corn starch ». *Cereal chemistry* 69 (1991): 280–283.
- King, D., M. Searcy, et K. Waller. « Plant Microfossils recovered from dental calculus at Casas Grandes, Mexico ». *All faculty publications*, 2016. <http://scholarsarchive.byu.edu/facpub/1729>.
- Larsen, C.S. « Dental modifications and tool use in the western Great Basin. » *American journal of physical anthropology* 67, no 4 (1985): 393-402. doi:10.1002/ajpa.1330670411.
- Linossier, A., M. Gajardo, et J. Olavarria. « Paleomicrobiological study in dental calculus : streptococcus mutans ». *Scanning Microscopy* 10, n° 4 (1996): 1005-1013; discussion 1014.
- Little, M.F., L. Bowman, C.A. Casciani, et J. Rowley. « The composition of dental calculus. 3. supragingival calculus : the amino acid and saccharide component ». *Archives of oral biology* 11, n° 4 (1966): 385-96.
- Madhusoodanan, J. « Inner workings : ancient teeth reveal clues about microbiome evolution ». *Proceedings of the national academy of sciences* 113, n° 21 (2016): 5764 - 65. doi:10.1073/pnas.1606592113.
- Mandel, D.I, et M.B. Levy. « Studies on salivary calculus. I. histochemical and chemical investigations of supra- and subgingival calculus ». *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology* 10, n° 8 (1957): 874-84. doi:10.1016/0030-4220(57)90119-6.
- Marsh, P.D. « Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries ». *Dental clinics of North America* 54, n° 3 (2010): 441-54. doi:10.1016/j.cden.2010.03.002.
- Muehleemann, H.R., et H.E. Schroeder. « Dynamics of supragingival calculus formation ». *Advances in oral biology* 1 (1964): 175-203.

- Newman, M.G., H.H. Takei, et P.R. Klokkevold. *Carranza's clinical periodontology*. 11th ed. Philadelphia : Elsevier Saunders, 2012.
- Osuoji, C.I., et S.L. Rowles. « Studies on the organic composition of dental calculus and related calculi ». *Calcified tissue research* 16, n° 3 (1974): 193-200.
- Ovalle, I.M. « El período formativo en los valles del norte de Chile y sur de Perú : nuevas evidencias y comentarios ». *Revista de antropología chilena* 36 (2004). doi:10.4067/S0717-73562004000300024.
- Ozga, A.T., M.A. Nieves-Colón, T.P. Honap, K. Sankaranarayanan, C.A Hofman, G.R Milner, C.M Lewis, A.C Stone, et C Warinner. « Successful enrichment and recovery of whole mitochondrial genomes from ancient human dental calculus ». *American journal of physical anthropology* 160, n° 2 (2016): 220 - 28. doi:10.1002/ajpa.22960.
- Pearsall, D. M. *Paleoethnobotany: a handbook of procedures*. 3rd. ed. Walnut Creek : Left Coast Press, 2015.
- Poulson, S.R., S.C. Kuzminsky, G. Richard Scott, V.G. Standen, B. Arriaza, I Munoz, et L Dorio. « Paleodiet in northern Chile through the Holocene : extremely heavy  $\delta^{15}\text{N}$  values in dental calculus suggest a guano-derived signature ? » *Journal of archaeological science* 40, n° 12 (2013): 4576-85.
- Power, R. C., D.C. Salazar-García, R.M. Wittig, et A.G. Henry. « Assessing use and suitability of scanning electron microscopy in the analysis of micro remains in dental calculus ». *Journal of archaeological science* 49 (2014): 160-69. doi:10.1016/j.jas.2014.04.016.
- Roberts-Harry, E. A., et V. Clerehugh. « Subgingival calculus : where are we now ? a comparative review ». *Journal of dentistry* 28, n° 2 (2000): 93-102.
- Rovner, I. « Plant opal phytolith analysis : major advances in archaeobotanical research ». *Advances in archaeological method and theory* 6 (1983): 225-66.
- Schoeninger, M.J. « Stable Isotope Evidence for the adoption of maize agriculture ». *Current anthropology* 50, n° 5 (2009): 633-40.
- Scott, G.R., et S.R. Poulson. « Stable carbon and nitrogen isotopes of human dental calculus : a potentially new non-destructive proxy for paleodietary analysis ». *Journal of archaeological science* 39, n° 5 (2012): 1388–1393. doi:10.1016/j.jas.2011.09.029.
- Teague, L.S., et H. Teiwes. *Textiles in southwestern prehistory*. Albuquerque : University of New Mexico Press, 1998.
- The American academy of periodontology. *Glossary of periodontal terms*. 4th ed. Chicago : American academy of periodontology, 2001.
- Warinner, C., et J.F.M. Rodrigues. « Pathogens and host immunity in the ancient human oral cavity ». *Nature genetics* 46, n° 4 (2014) : 336-44. doi:10.1038/ng.2906.
- Warinner, C., C. Speller, et M.J. Collins. « A new era in palaeomicrobiology : prospects for ancient dental calculus as a long-term record of the human oral microbiome ». *Philosophical transactions of the royal*

- society of London. Series B, Biological sciences* 370, n° 1660 (2015) : 20130376. doi:10.1098/rstb.2013.0376.
- Weiss, E., M.E. Kislev, O. Simchoni, et D. Nadel. « Small-grained wild grasses as staple food at the 23 000-year-old site of Ohalo II, Israel ». *Economic botany* 58, n° 1 (2004): S125 - 34. doi:10.1663/0013-0001(2004)58[S125:SWGASF]2.0.CO;2.
- Werner, R. A., B. A. Bruch, et W. A. Brand. « ConFlo III : an interface for high precision d13C and d15N analysis with an extended dynamic range ». *Rapid communications in mass spectrometry* 13, n° 13 (1999) : 1237-41.
- Wesolowski, V., S.M. Ferraz Mendonça de Souza, K.J. Reinhard, et G. Ceccantini. « Evaluating microfossil content of dental calculus from Brazilian sambaquis ». *Journal of archaeological science* 37, n° 6 (2010) : 1326-38.
- Williams, E. *Human remains : conservation, retrieval and analysis: proceedings of a conference held in Williamsburg, VA, nov. 7-11th 1999*. Oxford : Archaeopress, 2001.
- Woese, C. R. « Bacterial evolution ». *Microbiological reviews* 51, n° 2 (1987): 221-71.

## **TABLE DES FIGURES**

<i>Figure 1: Tartre présent sur une molaire .....</i>	5
<i>Figure 2: Tartre présent en lingual des incisives mandibulaires.....</i>	10
<i>Figure 3 : Photographie de la zone avant prélèvement. ....</i>	12
<i>Figure 4 : Photographie de la dent avec le tartre restant. ....</i>	12
<i>Figure 5 : Image ESEM (Environmental Scanning Microscopy) d'une racine dentaire (en haut à gauche) et après (en bas à gauche) prélèvement. L'image de droite correspond à un gros plan de la zone ayant été prélevée, aucun endommagement visible. ....</i>	13
<i>Figure 6 : a) Structures végétales de l'épithélium de Malpighi sur du dépôt de tartre vieux de 4000 ans av J.C b)c)d) et e) structures cristallines et fibres végétales.....</i>	16

<i>Figure 7 : Mise en évidence de cristaux de quartz (f) et de filaments fongiques avec des spores (g) dans des dépôts tartriques. ....</i>	<i>18</i>
<i>Figure 8 : Les différentes morphologies des grains d'amidon en fonction de leurs provenance. ....</i>	<i>20</i>
<i>Figure 9 : Grains d'amidon retrouvés dans du tartre humain. Grain intact à gauche et abimé à droite. ....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 10 : Grains retrouvés dans du tartre humain. Grains d'amidon intacts et identifiabes (A à G) et un grain non identifié (H). ....</i>	<i>24</i>
<i>Figure 11 : Image du microscope électronique montrant un groupe de grains d'amidon piégés dans la matrice du tartre. ....</i>	<i>24</i>
<i>Figure 12 : Grains d'amidon issus de maïs (a), du manioc (b et c), de racine de Maranta Arundinacea (d), du topinambour de Cayenne (e), de la canne (f), d'un haricot (g), de piments rouges (h et i), de citrouille (j et k) et du roucou (l). ....</i>	<i>26</i>
<i>Figure 13 : a) Phytolithes de datte (Phoenix) issus d'un individu de Shanidar III. Ces phytolithes correspondent respectivement: b) au fruit, c) la tige et d) la feuille. La figure montre que la concordance entre a) et b)..</i>	<i>29</i>
<i>Figure 14 : Tableau représentant l'évolution des régimes alimentaire de la préhistoire à aujourd'hui. ....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 15 : Charbon de bois (à gauche) et grain de pollen de pin (à droite) retrouvés dans des échantillons de tartre appartenant à des restes datant de 420.000 ans à 200.000 ans avant J.C. ....</i>	<i>33</i>
<i>Figure 16 : Image au MEB représentant une fibre de coton piégée dans le tartre. ....</i>	<i>36</i>
<i>Figure 17 : La plaque dentaire piège des bactéries orales (99%), des protéines humaines, des virus, des aliments, et préserve leurs ADN. ....</i>	<i>40</i>
<i>Figure 18 : Tartre supra et sous gingival visible sous la forme d'un anneau concave sur une molaire inférieure d'un individu ayant vécu à l'époque Médiévale dans le York, Angleterre. ....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 19 : Rendements comparatifs en quantité entre l'ADN présent dans le tartre et l'ADN présent dans la dentine. Les valeurs sont exprimés en nanogrammes d'ADN par mg de tissu. Les mesures ont été réalisées par spectroscopie. nd: non déterminé; asterix: moyenne. ....</i>	<i>42</i>
<i>Figure 20 : tartre dentaire de l'échelle macroscopique (a) à l'échelle microscopique à droite (b et c). On voit sur la figure b des lignes de croissance remarquable, grossissement x50. Et sur la figure (c) Une forme ronde correspondant à une bactérie bâtonnet non identifiée, grossissement X3000. ....</i>	<i>44</i>
<i>Figure 21 : Composition microbienne du tartre ancien. ....</i>	<i>46</i>
<i>Figure 22 : Changements au cours du temps de la composition du microbiome oral. ....</i>	<i>47</i>

Vu, le Directeur de thèse,

Vu, le Doyen de la Faculté de Chirurgie  
Dentaire de l'Université Paris Descartes,

Docteur Jean-Claude TAVERNIER

Professeur Louis MAMAN

# **Données récentes sur l'analyse du tartre en archéologie**

## **Résumé :**

Ce travail de recherche porte sur l'analyse du tartre en tant que matériel archéologique. Il s'agit d'une revue de littérature qui s'intéresse aux différentes études publiées concernant les méthodes de prélèvement du tartre, les différentes techniques d'analyse de celui-ci et enfin, les informations qui en découlent, toujours dans un contexte archéologique. Il est ainsi possible de connaître le régime alimentaire des populations passées, certaines maladies qui pouvaient les toucher, et parfois, même leurs comportements socio-économiques et leurs métiers. Après un bref rappel de quelques généralités, la première partie s'intéresse à l'analyse optique du tartre. Dans cette section, je présente les différents microfossiles que les études aux microscopes optique et électronique mettent en évidence à partir des échantillons de tartre prélevés sur des restes humains. La partie suivante détaille les études réalisées sur le tartre avec des techniques d'analyse isotopique. Enfin une grande partie de ce travail est consacrée aux études de l'information génétique contenue dans ces échantillons de tartre archéologique. Et la façon dont cette information est exploitée. En effet depuis quelques années l'analyse de l'ADN du tartre, aussi bien archéologique que contemporain, est devenue un excellent outil pour obtenir des informations sur l'individu étudié.

## **Discipline :**

Physiologie dentaire

## **Mots clés fMesh et Rameau :**

Tartre dentaire -- Dissertations universitaires ; Archéologie – méthodes --  
Dissertations universitaires ; Histoire ancienne -- Thèses et écrits académiques

Université Paris Descartes  
Faculté de Chirurgie dentaire  
1, rue Maurice Arnoux  
92120 Montrouge