



HAL
open science

Étude de la diagenèse des tissus dentaires immergés en milieu naturel salin et hyperbare : processus de tunnélisation dentinaire par les micro-organismes

Sofiane Massous

► **To cite this version:**

Sofiane Massous. Étude de la diagenèse des tissus dentaires immergés en milieu naturel salin et hyperbare : processus de tunnélisation dentinaire par les micro-organismes. Sciences du Vivant [q-bio]. 2019. dumas-03339070

HAL Id: dumas-03339070

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03339070v1>

Submitted on 9 Sep 2021

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 DIDEROT - PARIS 7

FACULTÉ DE CHIRURGIE DENTAIRE

5, Rue Garancière 75006 PARIS

Année 2019/2020

Thèse N°:

N° attribué par la bibliothèque :

THÈSE pour le DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR

En CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement le 11 Décembre 2019

par **Sofiane MASSOUS**

**ÉTUDE DE LA DIAGENÈSE DES TISSUS DENTAIRE IMMERGÉS EN
MILIEU NATUREL SALIN ET HYPERBARE: PROCESSUS DE
TUNNELISATION DENTINAIRE PAR LES MICRO-ORGANISMES**

Directeur de thèse : Madame la Professeure Laurence JORDAN

Monsieur le Docteur Steve TOUPENAY

JURY

Mme la Professeure Laurence JORDAN

Mme le Docteur Vanessa BAAROUN

M. le Docteur Stéphane BAREK

M. le Professeur Yves BOUCHER

Mme la Docteure Maria-Clotilde CARRA

M. le Docteur Rufino FELIZARDO

M. le Docteur Steve TOUPENAY

M. le Professeur Loïc SEGALIN

Présidente

Assesseur

Assesseur

Assesseur

Assesseur

Assesseur

Membre Invité

Membre Invité

UNIVERSITÉ PARIS DIDEROT – PARIS 7

Présidente de l'Université :

Mme la Professeure Christine CLERICI

Doyenne de l'U.F.R. d'Odontologie :

Mme la Professeure Ariane BERDAL

Directrice Générale des Services :

Madame Pascale SAINT-CYR

JURY

Mme la Professeure Laurence JORDAN
Mme le Docteur Vanessa BAAROUN
M. le Docteur Stéphane BAREK
M. le Professeur Yves BOUCHER
Mme la Docteure Maria-Clotilde CARRA
M. le Docteur Rufino FELIZARDO
M. le Docteur Steve TOUPENAY
M. le Professeur Loïc SEGALIN

Présidente
Assesseur
Assesseur
Assesseur
Assesseur
Assesseur
Membre Invité
Membre Invité

Mme la Professeure Laurence JORDAN Docteur en Chirurgie Dentaire
Diplôme de Doctorat
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury, ainsi que pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant la direction de cette thèse. Pour votre bienveillance, votre disponibilité et votre implication tout au long de ce travail et de votre dévouement auprès des étudiants pendant tout le cursus universitaire, soyez assurée de ma profonde reconnaissance.

Mme la Docteure Vanessa BAAROUN Docteur en Chirurgie Dentaire
Maître de Conférences des Universités - Praticien
Hospitalier

Toute ma gratitude pour votre participation à ce jury ainsi que votre enseignement de qualité. Veuillez trouver ici l'expression de ma plus grande reconnaissance.

M. le Docteur Stéphane BAREK Docteur en Chirurgie Dentaire
Diplôme de Doctorat
Maître de Conférences des Universités - Praticien
Hospitalier

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

M. le Professeur Yves BOUCHER Docteur en Chirurgie Dentaire
Diplôme de Doctorat
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury, pour votre pédagogie d'enseignement et pour votre disponibilité à transmettre votre savoir, soyez assuré de ma respectueuse considération.

Mme la Docteure Maria-Clotilde CARRA Docteur en Chirurgie Dentaire
Maître de Conférences des Universités –
Praticien Hospitalier

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury, pour votre pédagogie d'enseignement. Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

M. le Docteur Rufino FELIZARDO

Docteur en Chirurgie Dentaire
Diplôme de Doctorat
Maître de Conférences des Universités - Praticien
Hospitalier

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury, pour la qualité d'enseignement et la facilité à nous transmettre votre savoir, veuillez trouver ici l'expression de ma gratitude la plus sincère et de mon profond respect.

M. le Docteur Steve TOUPENAY

Docteur en Chirurgie Dentaire
Docteur ès Sciences en Biologie Orale
Maître de Conférences des Universités Associé
Expert près la Cour d'Appel de Paris
Secrétaire nationale du Conseil de l'ordre des
chirurgiens dentists

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury et la proposition de ce sujet de thèse original qui a permis de découvrir une autre facette de l'odontologie. Merci pour votre bienveillance et votre accompagnement dans l'élaboration de ce travail. Je vous prie de trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

M. le Professeur Loïc SEGALEN

Diplôme de Doctorat
Professeur des Universités
Directeur de l'UFR « Terre, Environnement,
Biodiversité » – Sorbonne Université – Faculté
des Sciences et de l'Ingénierie

Pour l'honneur que vous me faites de siéger à ce jury, pour votre disponibilité et engagement à la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici ma sincère reconnaissance.

Je souhaite également adresser mes plus sincères remerciements à l'équipe de l'Institut des Sciences de la Terre de Paris (ISTeP), qui m'a permis de réaliser toutes mes analyses, en particulier à Monsieur Omar BOUDOUMA (pour l'analyse au MEB), Monsieur Michel FIALIN et Monsieur Nicolas RIVIDI (pour l'analyse à la microsonde), pour leur accueil chaleureux, leur disponibilité, et le partage de leurs connaissances.

Enfin, je souhaite remercier les différentes personnes que je n'ai pu croiser et qui ont permis d'apporter des réponses à mes interrogations sur certaines parties de cette rédaction:

- Madame la Professeure Nadine LEBRIS, directrice du laboratoire d'écogéochimie des environnements benthiques à Banyuls-sur-Mer ;
- Monsieur Franck Lartaud, travaillant sur le site de Banyuls-sur-Mer, qui nous a apporté sa connaissance sur les diatomées ;
- Madame la Professeure Isabelle Rouget, qui nous a attaché nos échantillons sur la plateforme et pris les photos lors de la remontée à Banyuls-sur-Mer.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	3
1. IDENTIFICATION EN ODONTOLOGIE MEDICO-LEGALE	5
1.1. Définitions et généralités	5
1.2. Interet de l'identification humaine.....	7
1.2.1. Raisons juridiques :	8
1.2.2. Raisons judiciaires :	9
1.2.3. Raisons humaines :	9
1.3. Méthodes d'identification en odontologie medico-légale	10
1.3.1. Identification comparative.....	10
1.3.2. Identification évaluative (ou estimative).....	12
2. TAPHONOMIE MEDICO- LEGALE ET DIAGENESE	21
2.1. Taphonomie médico-légale	21
2.1.1. Définitions et généralités.....	21
2.1.2. Influence du milieu environnant sur l'organe dentaire	22
2.1.3. Diagenèse	25
2.2. Les tissus dentaires minéralisés	29
2.2.1. L'émail	30
2.2.2. La dentine	37
2.2.3. Le ciment	40
3. ETUDE DE LA DIAGENESE DES TISSUS DENTAIREs IMMERGES EN MILIEU SALIN NATUREL : LE CANYON DE BANYULS SUR MER.....	42
3.1. Objectifs.....	42
3.2. Matériels et méthodes	42
3.2.1. Matériel biologique	42
3.2.2. Conditions d'immersion.....	44
3.2.3. Méthode d'analyse et préparation des échantillons.....	55
3.3. Résultats.....	60
3.3.1. Observation macroscopique	60
3.3.2. Microscopie électronique à balayage	61
3.3.3. Microanalyse par microsonde électronique.....	73

4. DISCUSSION	105
4.1. Evaluation des biais	105
4.1.1. Biais liés aux échantillons	105
4.1.2. Biais liés au protocole de l'étude	105
4.2. Analyse des resultants	108
4.2.1. Email	108
4.2.2. Dentine / Cément.....	109
4.3. Bioerosion.....	109
4.3.1. Définition	109
4.3.2. Description des micro-organismes	111
4.3.3. Mécanisme de forage.....	116
4.3.4. Biominéralisation	120
4.4. Interet médico-légale	125
CONCLUSION	127
BIBLIOGRAPHIE	129

INTRODUCTION

L'incendie du bazar de la charité (4 mai 1987) est considéré comme la naissance de l'odontologie médico-légale en France. Les identifications des 120 victimes carbonisées seront majoritairement menées par reconnaissance physique et vestimentaire, entraînant de nombreuses erreurs. Seuls quelques corps feront l'objet d'une identification dentaire, parmi lesquels celui de la Duchesse d'Alençon, identifié grâce à l'intervention de son dentiste (Laborier et al. 2013).

Depuis plusieurs catastrophes de masse ont fait appel à l'odontologiste médico-légal pour l'identification d'individu. On peut citer:

- Le tsunami en Thaïlande (26 décembre 2004) avec un taux global de 83,3 % d'individus qui ont été identifiés grâce aux informations dentaires (James 2005; Schuller-Götzburg et Suchanek 2007) ;
- Le crash du vol Air France 447 Rio-Paris (nuit du 31 mai au 1 juin 2009) : L'Airbus A330 disparaissait au milieu de l'océan Atlantique. L'identification s'est déroulée en 2 phases espacées de 2 ans. Une première phase consécutive au crash avec 50 corps repêchés en surface et 50 identifications. Une deuxième phase avec 104 corps remontés depuis 3900 m de profondeur pour 103 identifications (Laborier et al. 2013) ;
- Plus récemment l'accident aérien d'un Airbus A320 de la compagnie Germanwings en avril 2015, dans les Alpes de Haute Provence et les attentats en novembre 2015 à Paris ou en juillet 2017 à Nice.

Les tissus dentaires et l'os sont les éléments les plus durs et les plus chimiquement stables du corps humain. Isolées du milieu extérieur par une véritable cage osseuse et musculaire, les dents solidement implantées sont naturellement protégées et persistent durablement quelles que soit les agressions que subit le corps (putréfaction, immersion dans l'eau, acide, crémation...). Des fragments d'émail de rongeurs de 4 millions d'années, examinés sous microscope électronique à balayage semblent avoir été prélevés le jour même (Laborier et al. 2013). Néanmoins lors de catastrophes de masse, les dents peuvent être désolidarisées de leurs maxillaires et retrouvées isolées. Pour ces cas, l'odontologiste médico légale jouera un rôle primordial dans l'identification d'un cadavre. En effet, celle-ci basée sur les informations dentaires est une procédure extrêmement efficace, fiable et rapide. Lorsque c'est possible, l'ADN d'une dent, constitue un moyen d'investigation remarquable en odontologie médico-

légale afin de préciser différents éléments comme l'origine d'un corps, son identification, les causes de sa mort et son éventuelle filiation.

Les dents peuvent subir des modifications de structure et de composition, regroupés sous le terme de diagenèse qui correspond à des processus physiques, biochimiques et physico-chimiques intervenant dans leur transformation en roches sédimentaires. Ces processus diagénétiques différents interviennent selon l'environnement où sont localisés les éléments dentaires à identifier.

Une étude précédente, avec immersion d'une durée de 6 mois de dents naturelles humaines dans le port du Havre à été réalisée. Celle ci a montré des tunnélisations de la dentine par des micro-organismes (processus diagénétique).

Le but de cette étude est d'analyser des dents immergées 1 an en milieu salin à 545 mètres de profondeur et de vérifier la possible existence d'un processus diagénétique identique ou différent à l'étude précédente. Ces analyses qualitative et quantitative serviront également à identifier les types de micro-organismes impliqués et de comprendre leurs mécanismes d'action responsable de ces tunnélisations.

Dans un premier temps, nous développerons l'importance de l'odontologie médico-légale dans l'identification d'individus et décrirons les processus généraux de la taphonomie et de la diagenèse.

Dans un second temps, nous développerons l'étude que nous avons menée sur la diagenèse de tissus dentaires immergés pendant 1 an en milieu salin dans le canyon de Banyuls-sur-Mer en Mer Méditerranée. Celle ci a été réalisée à partir d'échantillons analysées au Microscope électronique à balayage et à la microsonde électronique, en collaboration avec l'Institut des Sciences de la Terre de Paris (UMR 7193) de Sorbonne Université.

Enfin dans une dernière partie, nous discuterons des types de micro-organismes et des mécanismes susceptibles d'être à l'origine de ce processus diagénétique en milieu marin.

1. IDENTIFICATION EN ODONTOLOGIE MEDICO-LEGALE

1.1. Définitions et généralités

L'identification d'un corps relève du travail combiné de plusieurs experts et fait appel à de nombreuses disciplines regroupées sous trois domaines : le droit, les sciences et la médecine.

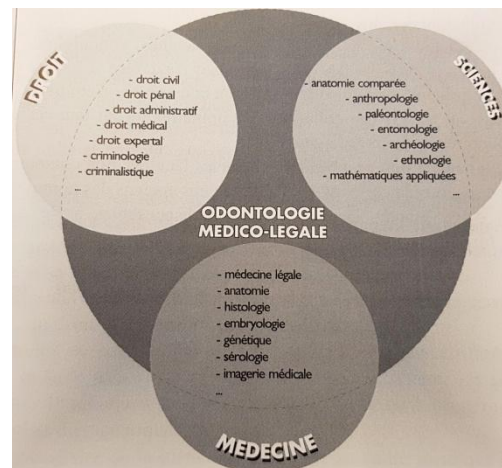


Figure 1: L'odontologie médico-légale se situe à la frontière de trois grands domaines: la médecine, le droit et les sciences (Georget et al. 2001)

La médecine légale recouvre trois disciplines différentes, elle s'intéresse notamment à l'analyse des structures calcifiées de l'organisme (les os et les dents) :

- la pathologie médico-légale, permet d'identifier un sujet après des examens externe et interne. Lorsque des ossements isolés sont retrouvés, l'examen externe consiste en la notification de l'emplacement, de la dimension et de la signification de stigmates repérés au niveau des pièces osseuses (Dirkmaat et al. 2008) ;
- l'anthropologie médico-légale, mesure les données concernant le squelette à partir d'études osseuses : descriptive et métrique, taphonomique et biologique ;
- l'odontologie médico-légale qui recueille les données concernant la sphère oro-faciale, et en évalue les dommages. Les pièces sont conservées pour permettre ultérieurement l'étude comparative et les examens d'identification reconstructive (Chandra shekar et Reddy 2009; Laborier et al. 2013).

L'identification médico-légale est réglementée par la présence de plusieurs lois réparties à travers différents codes dont le Code civil, le Code pénal et le Code de santé publique.

Une autopsie réalisée par un médecin légiste sera ordonnée par un magistrat, lorsque les circonstances de la mort ne sont pas élucidées. Dans le cas d'un corps restant non identifié, il est souvent fait appel à un odontologue médico-légal qui aura pour mission de réaliser un examen dentaire pour identification formelle du cadavre et de réaliser tous les prélèvements et radiographies nécessaires à l'identification de la personne.

Interpole décrit 4 étapes à suivre pour l'identification d'un cadavre :

1 – *Examen des lieux* : Récupération des victimes et de leurs effets personnels

2 – *Données post mortem (PM)* : Recherche par des spécialistes de preuves:

- empreintes digitales ;
- odontologie ou examen dentaire : les dents sont l'un des moyens les plus sûrs d'identifier une personne car elles sont très résistantes dans le temps et la plupart des gens possèdent un dossier dentaire ;
- profilage de l'ADN ;
- particularités physiques : des tatouages, des cicatrices ou des implants chirurgicaux propres à la victime.

Si l'identification visuelle n'est pas fiable :

3 – *Données ante mortem (AM)* : les dossiers médicaux et dentaires, les empreintes digitales et l'ADN sont récupérés chez la victime ou fournis par des membres de sa famille.

4 – *Rapprochement* : une fois les données PM et AM recueillies, une équipe de spécialistes les compare en vue d'identifier les victimes (Interpol 2019).

Lors d'attentats ou de catastrophes de masses avec une dégradation du corps importante, seul l'odontologue médico-légal peut avancer et certifier une identité en s'appuyant sur les techniques de l'identification comparative quand cela est possible et sur celles de l'identification reconstructive (Marchal 2010), les critères odontologiques sont des dispositifs très performants dans leurs résultats (Nossintchouk 1997). L'odontologie médico-légale concerne une autopsie sur 10 (Montoux et al. 2013).

Le rôle de l'odontologiste médico-légal est :

- l'identification du défunt ;
- l'identification d'une personne vivante : amnésique ou victime méconnaissable ;
- l'estimation de l'âge du vivant et du décédé ;
- l'analyse des morsures sur le corps ;
- la comparaison de fragments dentaires ;
- la présentation des preuves aux tribunaux (Hinchliffe 2011).

Dans 87,11% des cas, les expertises ont abouti à une identification formelle ; le plus gros facteur limitant, hormis l'indisponibilité de dossiers ante-mortem est la tenue non optimale des dossiers par les praticiens (Montoux et al. 2013).

L'intérêt de l'étude de l'organe dentaire réside en plusieurs points (Beauthier et Hédouin 2015) :

- la résistance dentaire à la quasi-totalité des agents extérieurs (à l'exception des très hautes températures et de quelques acides forts), les dents étant non périssables ainsi que les restaurations (composites, amalgames, couronnes) et les prothèses à base de résine acrylique (Hinchliffe 2011) ;
- les dents sont « liées au corps » et donc particulièrement fiables dans ce domaine d'identification ;
- il existe suffisamment de données ante mortem disponibles pour pouvoir effectuer des comparaisons fiables avec les données post mortem recueillies.

1.2. Intéret de l'identification humaine

Selon Piedelièvre : « Identifier une personne, un cadavre, c'est rechercher des indices médico-légaux suffisamment solides pour être comparés aux caractères physiques connus d'un individu disparu » (Georget et al. 2001).

Etablir l'identité d'une personne est une procédure complexe. L'issue de cette identification répond à des nécessités juridiques, judiciaires et humaines:

1.2.1. Raisons juridiques :

Sans identité, aucun certificat de décès ne peut être délivré lors de la découverte d'un corps.

Le certificat de décès, document officiel, apporte la certitude du décès. Il est établi par le médecin constatant la mort, qui indique entre autre que le décès ne présente pas de problème médico-légal nécessitant dans ce cas une autopsie (Article 81 du Code Civil : « Recherche de cause ou de circonstance entraînant un obstacle médico-légal »).

Ce certificat permet à la famille de préparer la sépulture et de commencer le travail de deuil. Il ouvre des droits civils de succession.

Plusieurs situations sont à distinguer dans le droit civil :

– Le décès :

D'après l'article 87 du Code Civil : « Lorsque le corps d'une personne décédée est retrouvé et peut être identifié, un acte de décès doit être dressé par l'officier de l'état civil du lieu présumé du décès, quel que soit le temps écoulé entre le décès et la découverte du corps.

Si le défunt ne peut être identifié, l'acte de décès doit comporter son signalement le plus complet ; en cas d'identification ultérieure, l'acte est rectifié dans les conditions prévues à l'article 99-1 du présent code. L'officier d'état civil informe sans délai le procureur de la République du décès, afin qu'il puisse prendre les réquisitions nécessaires aux fins d'établir l'identité du défunt ».

– L'absence :

On distingue la présomption d'absence et la déclaration d'absence :

➤ La présomption d'absence :

L'article 112 du Code civil dispose que: « Lorsqu'une personne a cessé de paraître au lieu de son domicile ou de sa résidence sans que l'on en ait eu de nouvelles, le juge des tutelles peut, à la demande des parties intéressées ou du ministère public, constater qu'il y a présomption d'absence. »

La personne est présumée vivante, ses intérêts sont protégés. Il faut 10 ans de délai avant que les ayant-droits puissent accéder à la succession.

➤ La déclaration d'absence

Article 122 : « Lorsqu'il se sera écoulé dix ans depuis le jugement qui a constaté la présomption d'absence, soit selon les modalités fixées par l'article 112, soit à l'occasion de l'une des procédures judiciaires, l'absence pourra être déclarée par le tribunal de grande instance à la requête de toute partie intéressée ou du ministère public. Il en sera de même quand, à défaut d'une telle constatation, la personne aura cessé de paraître au lieu de son domicile ou de sa résidence, sans que l'on en ait eu de nouvelles depuis plus de vingt ans. »

Le déclaré absent est assimilé alors à une personne décédée. Il faut un délai de 20 ans avant que les ayants-droits puissent accéder à la succession.

– La disparition : décrite dans les articles 88 à 92 du Code Civil

Concerne les personnes disparues dans des circonstances de nature à mettre leur vie en danger et celles dont le décès est certain, lorsque leur corps n'a pu être retrouvé.

« Peut être judiciairement déclaré, à la requête du Procureur de la République ou des parties intéressées, le décès de tout Français disparu en France ou hors de France, dans des circonstances de nature à mettre sa vie en danger, lorsque son corps n'a pas pu être retrouvé »

Le dispositif du jugement déclaratif de décès (qui tient lieu d'acte de décès) est transcrit sur les registres de l'état civil du lieu réel ou présumé du décès et, le cas échéant, sur ceux du lieu du dernier domicile du défunt.

1.2.2. Raisons judiciaires :

Au plan pénal, l'identification d'une victime est essentielle à l'enquête criminelle afin de déterminer un auteur et permet que la justice s'applique afin d'indemniser les ayants-droits.

1.2.3. Raisons humaines :

L'identification des victimes permet de soulager des familles qui peuvent enfin essayer de faire le deuil de leurs disparus. L'identification donne, à la famille du défunt et à ses proches, la certitude de la mort. Après avoir identifié un corps, celui-ci est rendu à la famille qui peut ensuite donner une sépulture à son défunt. Les obsèques jouent également un rôle primordial

dans le processus du deuil. Le lieu de recueillement permet de rassembler une communauté autour d'un mort afin de mieux en accepter la réalité.

- Raison religieuse : Dans les différentes religions, le culte et la symbolique qui entourent la mort diffèrent notablement. Un corps identifié autorise tous les rituels et permet aux proches de célébrer les funérailles adaptées au culte ou éventuellement à l'absence de culte.
- Raison morale, éthique et citoyenne : Intérêt « naturel » qui va pousser les hommes à ne pas laisser un homme sans nom.

1.3. Méthodes d'identification en odontologie medico-légale

L'identification d'une personne peut être faite selon une identification comparative (dans 86,88 % des cas) ou évaluative (dans 10,92 % des cas) et 2,18 % selon des cas d'analyses de traces de morsure (Montoux et al. 2013).

1.3.1. Identification comparative

Selon Keiser-Nielsen : « C'est le résultat positif d'une comparaison entre des constatations dentaires post mortem (fournies par une autopsie de la bouche) et des renseignements dentaires ante mortem relatifs à une personne disparue (archives d'un chirurgien dentiste traitant) » (Keiser-Nielsen 1977).

L'identification peut être effectuée grâce à des méthodes comparatives pour lesquelles il est nécessaire de disposer de renseignements ante-mortem. La tâche de l'odontologiste médico-légal est de comparer ces renseignements avec les données post mortem rassemblées lors de l'autopsie. « Le but est de réaliser l'identification positive d'un individu par comparaison d'une partie de son corps avec des renseignements précis amassés ultérieurement » (Decobert et Riaud 2016).

« Les informations ante mortem doivent parfaitement correspondre avec les résultats de l'examen dentaire post mortem, ou toute divergence doit être explicable. » (Hinchliffe 2011).

L'identification comparative passe par trois stades :

1. La recherche sur le cadavre ou ses restes des données post mortem ou « indices » :

- indices thérapeutiques : Forme de l'arcade, alignement, occlusion, les soins dentaires conservateurs (composite, amalgame, onlay, traitement endodontique...), Traitements orthodontiques (bagues, appareillages), prothétiques (conjointe, adjointe), Implantaires ...
- indices anatomiques : Anomalie dentaire (agénésie, dents surnuméraires, mésiodens, fusion...), Anomalie de volume, de position, de structure. Anomalie osseuse (torus...) et anomalie des tissus mous (rare) ;
- indices pathologiques : Traumatisme dentaire (fêlures, fracture ...) et traumatisme maxillo-facial ;
- indices physiologiques : Coloration dentaire d'origine intrinsèque ou extrinsèque, résorption, mylolyse, tartre...

2. La recherche dans les documents médicaux des données ante mortem ou « supports » :

- les supports verbaux, résultats de l'interrogatoire des proches de la personne disparue et de ses praticiens traitants, transcrits par les enquêteurs dans les procès verbaux ;
- les supports écrits, composés des documents papier des dossiers médicaux et dentaires ;
- les supports « images » : les radiographies, l'imagerie médicale et les photographies ;
- les supports en trois dimensions, représentés par les moulages orthodontiques ou prothétiques et parfois par les anciennes prothèses adjointes, gouttières, appareils orthodontiques ;
- les supports informatiques, enregistrés dans les fichiers numériques (Georget et al. 2001).

3. L'analyse des analogies et des incompatibilités entre indices et supports

La confrontation des indices et supports met en évidence les points de concordance, de discordance ou d'exclusion.

L'expert doit communiquer l'information sous une forme d'une représentation visuelle commune, facilement accessible au non professionnel (magistrat, OPJ, avocat, famille...), sous la forme d'un schéma visualisant les arcades : l'odontogramme qui est composé d'un diagramme et des légendes (Georget et al. 2001).

1.3.2. Identification évaluative (ou estimative)

En l'absence d'éléments comparatifs ante mortem, les experts médico-légaux ont recours à la méthode évaluative. Dans certains cas, l'identification estimative est un préalable à l'identification comparative, car la détermination du sexe et de l'âge permet d'orienter l'expert vers un échantillon plus précis d'identités potentielles, qu'il pourra par la suite comparer à celle du cadavre (Decobert et Riaud 2016).

L'éruption dentaire est un élément assez variable. Par contre, le développement dentaire est peu atteint par des facteurs externes et est dès lors un très bon indicateur de l'estimation de l'âge.

L'évolution dentaire s'effectue selon 4 périodes :

- période embryonnaire, foetale et néonatale : vie embryonnaire jusqu'à la naissance ;
- période infantile ou subadulte : de la naissance jusqu' à l'âge de 17 ans ;
- période subadulte à adulte : de l'âge de 17 à 21 ans ;
- période de l'âge adulte : de 21 ans à la mort.

Le choix de la méthode d'évaluation de l'évolution dentaire sera fonction de la période à laquelle est supposée se trouver la personne.

Période embryonnaire, fœtale et néonatale	<ul style="list-style-type: none"> – Etat des bourgeons dentaires sur radiographie panoramique – Analyse d'une coupe dentaire, examen des stries de Retzius permettant d'établir la croissance de la dent et de confronter la disposition des stries de croissance par rapport à la ligne néonatale.
Période infantile ou subadulte	<ul style="list-style-type: none"> – Examen clinique et étude de l'éruption dentaire déciduale ou permanente (Matt et al. ; Ubelaker) – Etude du degré de calcification des couronnes et des racines visualisées sur radiographies apicales si possible (Anderson et al. ; Demirjian et al. ; Willems et al.)
Période subadulte à adulte	<ul style="list-style-type: none"> – Etat de croissance des dents de sagesse (Gunst)
A l'âge adulte	<ul style="list-style-type: none"> – Rapports entre taille racine/ couronne/ cavité pulpaire /cavité radiculaire (Kvall et Solheim) – Méthode de Lamendin (Lamendin) – Mesure de la hauteur de la translucidité apicale (Bang et Ramm)

Tableau 1 : Evaluation de l'évolution dentaire en fonction de l'âge (Georget et al. 2007)

Estimation de l'âge dentaire post mortem chez l'enfant

Chez les enfants, il a été proposé des méthodes histologiques, d'éruption dentaire et de calcification dentaire.

L'étude histologique des tissus dentaires, date de 1935 avec Kronfeld qui a établi à partir de nombreuses coupes histologiques le degré de calcification, le stade de développement et la situation de chaque dent de la naissance jusqu' à l'âge de 15 ans.

L'étude de l'éruption dentaire (Etudes chronologiques d'éruption) permet d'évaluer l'âge par l'étude de l'éruption dentaire avec une marge d'erreur de 2 à 4 mois. Pour cela il suffit de consulter un tableau de référence.

L'étude de la calcification, qui présente de nombreuses difficultés d'interprétation radiographique, ce fait à l'aide de tables qui indiquent chronologiquement :

- le début de la minéralisation ;
- l'éruption ;
- la formation complète de la couronne ;
- la formation complète de la racine.

L'estimation à l'âge de l'adolescence se fait essentiellement via l'interprétation des stades de formation de l'ensemble des dents sur une radio ou sur une pièce osseuse. Les méthodes les plus connues sont les méthodes de Schour et Massler (1941) qui ont été reprises par Uberlaker (1978). Contrairement aux tables de Schour et Massler, les tables d'Uberlaker ne présentent pas des encadrements systématiques de plus ou moins 6 ans mais des encadrements adaptés à chaque stade de développement. L'estimation de l'âge selon Uberlaker est réalisée par lecture directe de l'âge sur des tables qui sont également utilisées en archéologie pour déterminer l'âge (Georget et al. 2007).

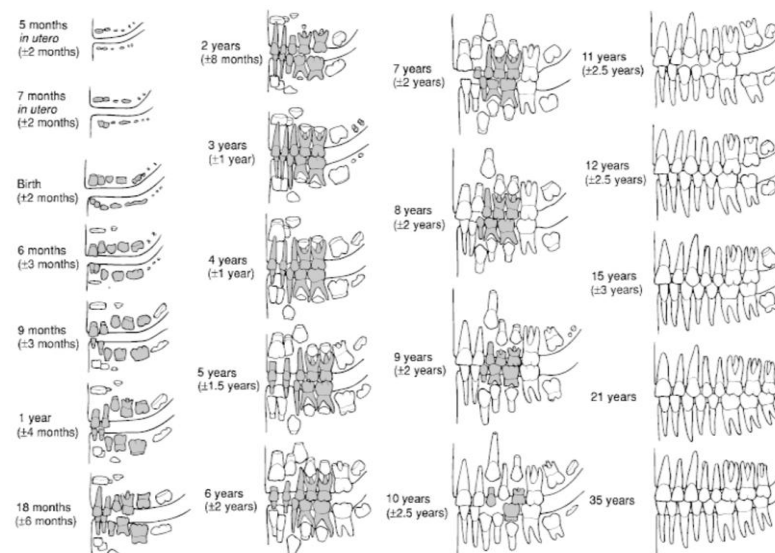


Figure 2 : Estimation de l'âge selon Uberlaker (Georget et al. 2007)

Une seconde méthode d'estimation de l'âge en odontologie médico-légale est celle de Demirjian (1973), adaptée par Griffin et Malan (1987). Elle est basée sur l'analyse radiographique de la maturation de l'ensemble des dents permanentes mandibulaires, hormis les dents de sagesse. A l'aide de schémas, le stade de minéralisation de chaque dent est déterminé par comparaison avec les radiographies. Chaque stade correspond à un score qui est différent pour chaque dent et dépendant du sexe. Huit stades différents ont été définis :

ils vont de A à H et sont illustrés en Figure 3. Le résultat est reporté sur le tableau d'enregistrement en cochant les cases. Pour chaque case cochée, une valeur est attribuée selon la table des scores des stades de minéralisation. L'addition de l'ensemble des nombres donne un résultat correspondant au score de maturation qui est exploité en fonction du sexe. La lecture de l'estimation de l'âge se fait via la lecture de table selon le sexe.

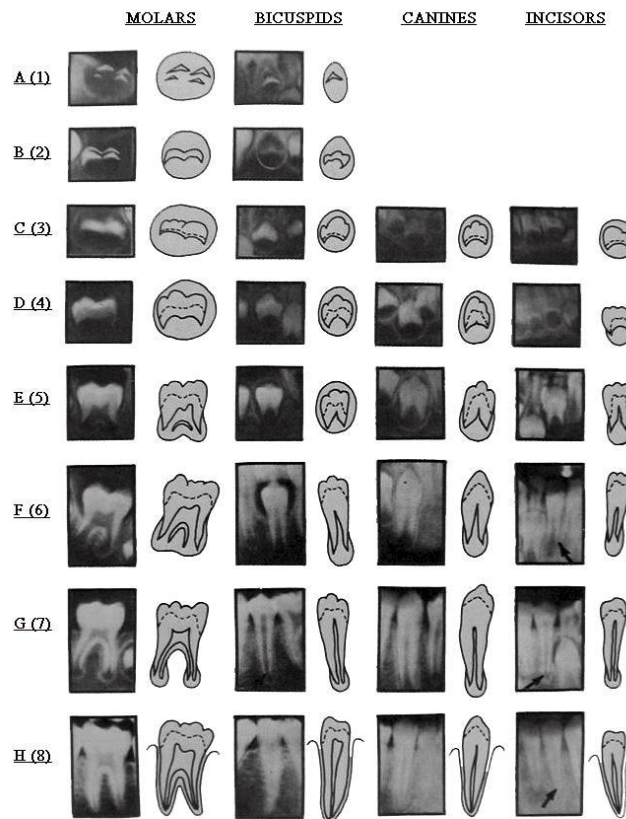


Figure 3: Stades de minéralisation des dents permanentes, définis par la méthode Demirjian

Stade									
Dent	0	A	B	C	D	E	F	G	H
Garçons									
M ₂	0.0	1.7	3.1	5.4	8.6	11.4	12.4	12.8	13.6
M ₁				0.0	5.3	7.5	10.3	13.9	16.8
PM ₂	0.0	1.5	2.7	5.2	8.0	10.8	12.0	12.5	13.2
PM ₁		0.0	4.0	6.3	9.4	13.2	14.9	15.5	16.1
C				0.0	4.0	7.8	10.1	11.4	12.0
I ₂				0.0	2.8	5.4	7.7	10.5	13.2
I ₁				0.0	4.3	6.3	8.2	11.2	15.1
Filles									
M ₂	0.0	1.8	3.1	5.4	9.0	11.7	12.8	13.2	13.8
M ₁				0.0	3.5	5.6	8.4	12.5	15.4
PM ₂	0.0	1.7	2.9	5.4	8.6	11.1	12.3	12.8	13.3
PM ₁		0.0	3.1	5.2	8.8	12.6	14.3	14.9	15.5
C				0.0	3.7	7.3	10.0	11.8	12.5
I ₂				0.0	2.8	5.3	8.1	11.2	13.8
I ₁				0.0	4.4	6.3	8.5	12.0	15.8

Tableau 2: Table des scores des stades de minéralisation d'après Demirijian (Georget et al. 2007)

Estimation de l'âge dentaire post mortem chez l'adulte

Vers l'âge de 15 ans, estimer l'âge exact est difficile car les phénomènes liés à la formation et à l'éruption dentaire sont terminés. Il est donc nécessaire d'avoir des méthodes fondées sur les modifications complémentaires telles que l'estimation de l'usure des surfaces occlusales, de l'apposition de dentine secondaire, des variations de la morphologie radiculaire, de la transparence de la dentine...

Chez l'adulte, Les deux principales méthodes utilisées sont les méthodes de Gustafson (1947) et de Lamendin (1990).

La méthode de Gustafson, dite de « coupe fine » mise au point par Gustafson en 1947 sur des dents monoradiculées, exploite les facteurs suivants (critères de vieillissement) :

- Abrasion (A) ;
- Parodontose (P) ;
- Dentine secondaire (S) ;
- Apposition cémentaire (C) ;
- Résorption radiculaire (R) ;
- Transparence radiculaire (T).

Chaque facteur est affecté d'un nombre de point allant de 0 à 3 selon l'intensité de l'altération observée.

Pour le calcul de l'âge il existe une formule pondérée : $\hat{\text{Age}} = 11,43 + 4,56X$ (+/- 3,63) avec X correspondant à la somme des points des indices A, P, S, C, R et T.

Ces 6 critères peuvent être influencés par des causes pathologiques.

L'utilisation de la méthode de Gustafson donne satisfaction avec une marge d'erreur de +/- 3 ans. Mais cette marge passe à 8 ans pour les âges compris entre 40 à 70 ans, compte tenu de facteurs individuels comme les habitudes alimentaires, le tabagisme... ; Elle ne se révèle donc relativement précise que pour des individus de moins de 40 ans (Metzger et al. 1980; Laborier et al. 2013).

La méthode de Lamendin (1990) dite méthode à deux critères dentaires correspond à une méthode de « Gustafson simplifiée » qui ne conserve que deux variables prédictives qui sont la Parodontose (P) et la Translucidité radiculaire (T).

Les dents utilisées sont les monoradiculées, en position sagittale (vestibulo-linguale) et la mesure de la translucidité radiculaire se fait à l'aide d'un négatoscope de 16 Watts.

La hauteur de translucidité est prise à partir de l'apex sur le coté vestibulaire et palatin.

La mesure de la parodontose est celle de la distance « entre la jonction amélo-cémentaire et la ligne d'attachement gingival, à son niveau le plus apical, ou entre la jonction amélo-cémentaire et la limite la plus apicale des dépôts, tartriques ou autres ».

La longueur totale de la racine correspond à la distance maximale qui sépare la jonction amélo-cémentaire de l'apex.

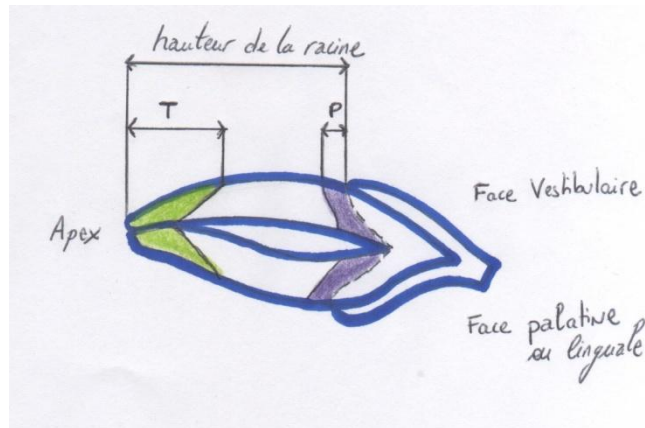


Figure 4: Schéma de mesure des indices selon la méthode de Lamentin (Georget et al. 2007)

La hauteur de la transparence radicaire dentinaire est corrélée à l'estimation de l'âge dentaire des sujets vivants. C'est un phénomène évolutif ante-mortem et est constamment observé chez les sujets vivants ou décédés récemment, mais qui apparaît inconstant pour le matériel archéologique (Marchand et al. 2018).

L'âge est estimé en appliquant la formule suivante : $\hat{\text{Age}} = 0,18P + 0,42 T + 25,53$

Dans laquelle :

$T = \text{Hauteur de la transparence} \times 100 / \text{hauteur de la racine}$

$P = \text{Hauteur de la parodontose} \times 100 / \text{hauteur de la racine}$

La constante 25,53 signifie que la valeur minimale de l'âge estimé sera forcément supérieure.

D'après Lamendin, la plus grande précision est obtenue pour les tranches d'âges de 40 à 79 ans. L'efficacité maximale de la méthode se situe entre 50 et 69 ans.

Estimation du sexe :

Les méthodes génétiques restent les plus fiables. Cependant, les techniques basées sur la biométrie osseuse (crâne et bassin) ont un intérêt lorsque l'extraction de l'ADN est un échec. Il existe de nombreux indices de l'influence du sexe sur la morphologie du squelette (Decobert et Riaud 2016). Sur la face, les variations sexuelles ostéométriques les plus importantes s'observent sur la mandibule. Les variations sexuelles de la denture concernent

surtout les canines, plus forte chez les hommes, associées à des petites incisives (Inversement proportionnelle chez les femmes). Le taux de précision global de la détermination du sexe odontométrique est d'environ 72 % (Krishan et al. 2015). Le taux de réussite est de 98 % lorsqu'on dispose du bassin et du crâne. Il approche 100 % lorsque le squelette est complet (Laborier et al. 2013).

Il existe plusieurs méthodes de détermination du sexe, nous en citerons quelques unes :

- Méthode de Fronty (Dimodent) :

Mesure du plus grand diamètre coronaire dans le sens mésio-distal et vestibulo-lingual d'une incisive latérale et une canine inférieure définitives. Ces mesures sont utilisées dans une équation dont le résultat permet de calculer P, la probabilité que l'individu soit de sexe féminin. Cette valeur rapportée sur la courbe de dimodent permet de déterminer le sexe du sujet. Cette technique a été affinée par Thomas, Hasser et Bitsch en 2012, avec une nouvelle équation à réaliser lorsque le premier test conclut qu'il s'agit d'un homme ou que le résultat est indéterminé. Le taux de réussite passe alors de 80 % pour les hommes et les femmes contre 33 % uniquement pour les hommes avec la méthode de Fronty (Laborier et al. 2013).

- Méthode de Bequain :

Elle demande de prélever les incisives et les canines définitives maxillaires et mandibulaires, elle est basée sur les mesures du diamètre mésio-distal et vestibulo-lingual effectuées au collet des dents étudiées (zone particulièrement conservée, car protégée par l'os alvéolaire) (Georget et al. 2007); Le pourcentage de résultats positifs est de 77 % (Bequain et Boutonnet 1980).

Estimation de la population :

Certaines caractéristiques morphologiques des dents peuvent être utilisées pour distinguer l'ethnie ou l'ascendance (Krishan et al. 2015).

Depuis plusieurs années, un grand nombre de chercheurs (anthropologue, généticien...) ont essayé de trouver des critères anatomiques identiques afin de classer la population en différents groupes :

- En fonction des dents :

En effet, les travaux de Hartweg (dans (Bonneau et Moreau R. Vaillant 1983) classent les populations en trois catégories en fonction de la couleur de peau : Mélanoderme (population noire), Xanthoderme (population jaune) et Leucoderme (population blanche).

D'autres auteurs distinguent les populations en fonction de la taille de leurs dents : Microdonties (Leucoderme), Mesodontes (Xanthoderme) et Magadontes (Mélanoderme)

- En fonction de la forme des arcades maxillaire et mandibulaire :

Arcade paraboliques (leucoderme), arcades elliptiques (xanthoderme) et arcade en forme d'upsilon (mélanoderme).

- En fonction des anomalies dentaires : tubercules de Carabelli, schéma occlusal
- En fonction de l'ostéométrie crânienne

En conclusion, les caractères crâniens et dentaires orientent parfois le diagnostic ethnique mais ne permet pas d'affirmer catégoriquement l'appartenance à telle ou telle population.

Estimation des habitudes de vie

De nombreuses traces, d'origine non thérapeutique et non physiologique, indélébiles, sont présentes en bouche. Elles nous renseignent sur les coutumes, habitudes alimentaires ou professionnelles :

- les teintures dentaires comme au Viêt Nam avec les dents laquées en noir, ou les chiqueurs de bétel ;
- les mutilations dentaires en Afrique noire (extraction ou limage des dents non thérapeutique) ;
- tatouage et piercing ;
- usures pathologiques professionnelles : usure particulière, non physiologique, due à l'utilisation de ses dents comme outils, caries aux collets (pâtissier...), bruxisme (stress...).

2. TAPHONOMIE MEDICO- LEGALE ET DIAGENESE

2.1. Taphonomie médico-légale

2.1.1. Définitions et généralités

Terme proposé par Efremov (paléontologue russe) en 1940, la taphonomie, du grec taphos qui signifie tombe, enfouissement, et nomos, la loi. La taphonomie est une science multidisciplinaire, elle est liée à la paléontologie, la géologie et à l'archéologie. C'est l'étude scientifique des processus de fossilisation des êtres vivants (enfouissement, minéralisation...). Elle étudie les modifications subies par les organismes c'est-à-dire l'étude du passage de la biosphère (monde vivant) à la lithosphère (monde minéral, état fossile) (Fernandez-Lopez 1995).

La taphonomie regroupe :

- la néotaphonomie (branche de l'actuopaléontologie), ou l'étude des processus actuels de concentration des vertébrés après la mort et avant leur enfouissement ;
- la paléotaphonomie, ou l'étude des processus survenant après l'enfouissement, l'étude des localités fossiles et de leur contenu (Denys et Patou-Mathis 2014).

La taphonomie comprend tous les processus associés à la décomposition et à la conservation de la matière organique, y compris l'influence de l'environnement sur ces processus.

Dans le cadre de l'anthropologie, cette discipline intéresse le vieillissement, la dégradation post mortem de l'os et des tissus dentaires en fonction des milieux et des conditions spécifiques à savoir :

- terrains variables ;
- nature du sol ou du sous-sol en fonction de la profondeur de l'enfouissement ;
- variations des conditions atmosphériques : température, humidité, expositions solaires, habitudes de la faune nécrophage ;
- submersion en eau douce ;
- submersion en eau salée.

Les agents taphonomiques vont avoir une action de concentration ou de destruction des sites paléontologiques. Ainsi la formation d'un site résulte des interactions de ces différents agents

et des conditions environnementales qui prédominent avant, pendant et après l'enfouissement. Il est ainsi fondamental de pouvoir distinguer les traces laissées par les agents taphonomiques de celles dues aux activités humaines (Denys et Patou-Mathis 2014).

La taphonomie est pertinente pour les enquêtes médico-légales sur les décès car une bonne interprétation des processus de décomposition peut permettre d'atteindre des objectifs d'investigation comme de déterminer la cause de la mort ou d'estimer l'intervalle post mortem (Denys et Patou-Mathis 2014).

La taphonomie médico-légale s'intéresse à l'ensemble des processus biologiques et biochimiques impliqués dans la transformation du cadavre. Cette discipline réunit plusieurs spécialistes : médecins légistes, anthropologues, entomologistes et odontologistes. En effet elle regroupe des thématiques transversales comme :

- la Thanathologie (rôle du médecin légiste)
- l'Entonologie (Mouches/ Larves)
- l'Anthropologie et l'Odontologie.

2.1.2. Influence du milieu environnant sur l'organe dentaire

En cas de décomposition ou de crémation, les tissus mous sont les premiers à disparaître, viennent ensuite les os et enfin l'organe dentaire.

De part sa composition très minérale, l'organe dentaire est l'élément du corps humain résistant le mieux aux atteintes physico-chimiques environnementales. Cependant, il peut subir des agressions de l'environnement et des éléments qui les entourent comme le feu, l'acidité, l'eau, l'air et la terre entraînant des modifications morphologiques (voir de destruction complète).

LE FEU

Les teintes et les structures dentaires varient fortement en fonction de la température, du temps d'exposition à l'effet de la chaleur et de la courbe d'élévation des températures.

Plusieurs auteurs ont décrit les changements de colorations et les modifications de structures de l'organe dentaire qui résiste jusqu'à une température de 400°C et devient friable au delà des 400°C (Muller et al. 1998; Karkhanis et al. 2009).

Température	Colorations	Modifications de structures
100°C		Pas de modification
150°C	Légère coloration	Craquelures peu profondes
175°C	Email brillant légèrement jauni	Fissures et craquelures des racines
200°C	Email recouvert d'un enduit grisâtre	Aspect quadrillé de la racine
225°C	Email gris, racines brunes	
270°C	Couronne grisâtre et brillante	Fissure plus grandes, collet fissuré
300°C	Dentine charbonneuse	Grande fragilité, l'émail tombe
400°C	Dentine charbonneuse	Chute spontanée de l'émail sain Explosion de l'émail carié

Tableau 3 : Modification de la structure dentaire par rapport à une augmentation de Température (Nossintchouk 1997)

La dent est donc une source de données particulièrement précieuse pour l'identification des victimes carbonisées. Avec presque 95 % de victimes identifiées sur un ensemble de catastrophes dont celles du Temple Solaire en 1995 (100 %), la catastrophe du tunnel du Mont-Blanc en 1999 (79 %), le crash du Concorde en 2000 (99 %), l'accident autoroutier de l'A10 en 2003 (88 %), les éléments dentaires et prothétiques ont montré leur résistance à la crémation extrême. Même lorsque le recours à l'ADN est devenu impossible, les dents carbonisées peuvent encore être utiles pour une identification (Gaudry et al. 2017).

L'ENFOUISSEMENT

L'enfouissement de cadavre entraîne des altérations de l'organe dentaire selon la composition du sol : un sol sec va conserver l'organe dentaire, à contrario un sol acide et marécageux va dégrader les tissus minéralisés de l'organe dentaire. Au sein d'un sol sablonneux, l'organe dentaire est recouvert d'un dépôt de calcite qui permet la conservation pendant des milliers d'années.

L'EAU

L'eau présente un PH neutre (autour de 7), ne modifie ni ne détruit l'organe dentaire. Par contre, après une immersion prolongée, les dents présentent une forte fluorescence sous l'action de rayons ultraviolets. Cette fluorescence n'apparaît que si le corps est resté immergé entre douze et dix-huit mois minimum.

Lorsque la peau est immergée pendant une longue période, l'épiderme des mains glisse comme un gant et les ongles tombent. L'adipocère est observé dans un environnement humide. Il est produit par la saponification de la graisse corporelle et se caractérise par une couleur blanc grisâtre et une consistance friable (A. van Daalen et al. 2017).

L'ACIDITE

Plusieurs études sur l'effet d'attaque acide sur l'organe dentaire ont été réalisées :

D'après l'étude de Mazza et all. qui a immergé des dents dans différents acides afin de visualiser la dégradation des tissus dentaires :

- solution acide chlorhydrique à 37 %, dissolution complète au bout de 14h ;
- solution d'acide sulfurique à 96 % : Dissolution toujours incomplète après 90 heures d'immersion ;
- solution d'acide nitrique : dissolution complète entre 12 et 17 heures (Mazza et al. 2005).

Selon l'étude de Jadhav et all :

- acide chlorhydrique à 37 % : au bout de 4h : désintégration de la couronne et la racine. Au bout de 8h : dissolution presque complète et au bout de 15 heures : dissolution complète ;
- acide nitrique à 65 % : dissolution complète au bout de 20 heures ;
- acide sulfurique à 96 % : dissolution complète au bout de 144 heures (Jadhav et al. 2009).

En médecine légale, plusieurs méthodes d'élimination des tissus mous pour analyse des dents sont effectuées par des produits chimiques. Cela peut avoir des conséquences négatives sur l'applicabilité des méthodes morphologiques (par exemple, l'estimation de l'âge sur la base de la translucidité des racines) et des méthodes biomoléculaires (par exemple, l'estimation de l'âge sur la base de l'analyse de l'AAR et de l'ADN) (Offele et al. 2007).

LA PRESSION

En milieu aquatique, la pression varie avec la profondeur (pression hydrostatique). La pression augmente proportionnellement à la profondeur de 1 bar tous les 10 m. (À 545 m de profondeur la pression est donc de 54 bars).

Les variations de pression en plongée causent des lésions appelées Barotraumatismes situés aux niveaux des organes comportant des cavités contenant de l'air. Concernant les dents, les barotraumatismes sont dus à la différence de pression entre l'extérieur et l'intérieur par un manque d'étanchéité des restaurations ou la présence de caries. Cela peut entraîner des fissures de la dent jusqu'à l'explosion (Boudi et al. 2017).

Dans le domaine de la plongée sous-marine, les fractures dentaires surviennent généralement au cours de la phase de remontée (Gunepin et al. 2014).

2.1.3. Diagenèse

La diagenèse est l'ensemble des processus qui interviennent dans la transformation des sédiments en roches sédimentaires. Si elles débutent sur le fond (si sédimentation aquatique), la diagenèse est dite précoce, si elle se poursuit quand ils sont enfouis sous d'autres sédiments, la diagenèse est dite tardive.

Le facteur temps est le moins important dans la progression des lésions post mortem (Couradeau et al. 2017).

Ces processus sont de nature différente :

- processus physique: comme par exemple l'érosion, l'hydrodynamisme...
- processus biochimique: dû à l'activité des êtres vivants (bactéries) qui rendent le milieu de plus en plus acide et réducteur ;
- processus physico-chimique: perte d'eau, dissolution de certains minéraux, circulation de fluides interstitiels, précipitation ou cristallisation, épigénisation (transformation d'un minéral en un autre minéral de même composition chimique globale par réarrangement des réseaux cristallins) ou métasomatose (remplacement d'un minéral le carbonate de calcium par un autre minéral comme la pyrite de fer)...

On peut distinguer différentes phases dans la transformation des sédiments en roche:

- la compaction: sous l'action des êtres vivants, de la pédogénèse, de la déshydratation, de la pression, les sédiments perdent de l'eau et des sels minéraux par dissolution, leur densité augmente. C'est le cas de la silice ou du carbonate de calcium.
- la cimentation: progressivement les grains se soudent sous l'action des sels qui circulent avec des fluides saturés et précipitent; les sables donnent des grès et les boues des argiles, des pélites ou des marnes.
- la recristallisation : au cours de l'enfouissement sous d'autres sédiments, la pression et la température augmentent favorisant la dissolution de minéraux qui recristalliseront à la faveur de nouvelles conditions du milieu,
- l'épigénisation

Müller (1951, 1963) a commencé à parler de diagénèse des fossiles, ce qui permettait d'inclure les événements de fossilisation prenant place après l'enfouissement final des restes organiques. Selon Müller (1963), la fossilisation est : « l'ensemble des processus physico-chimiques qui préservent plus ou moins la morphologie et par échanges ioniques, augmentent la taille des cristaux d'apatite (recristallisation) et diminuent la matière organique de l'os, ce qui lui donne l'apparence de la pierre ». On peut considérer que la diagénèse intervient pendant toute la fossilisation mais qu'elle ne commence qu'après l'enfouissement dans le sédiment. (Müller 1951, Lawrence 1968, Behrensmeyer et al 1989).

1. Diagénèse des dents conservées dans leurs maxillaires (Couradeau et al. 2017) :

Tous les tissus durs observés dans cette étude, à l'exception de l'émail, avaient subi une modification diagénétique assez radicale. Il a été montré que les tissus en milieu marin avaient des morphologies très distinctives et différentes de celles des matériaux enfouis dans le sol.

Au niveau dentinaire, la modification diagénétique était très importante (racine, la couche granuleuse de Tomes) hormis la dentine sous jacente à l'émail, protégée par l'émail. L'attaque est plutôt périphérique a contrario dans le sol l'attaque se fait surtout au niveau de la dentine intertubulaire. La propagation complète de l'attaque post mortem semble être limitée et n'a affecté que la dentine radiculaire au niveau supérieur de la crête alvéolaire.

2. Diagenèse de l'os en immersion :

Au cours de la diagenèse, les protéines sont plus ou moins totalement éliminées et remplacées par des substances inorganiques (Pfretzschner 2004).

La recristallisation de la matrice d'apatite transforme l'os fossile en une phase minérale plus stable diagenétiquement et diminue la surface accessible des cristaux.

La diagenèse osseuse peut se diviser en deux étapes successives majeures: la diagenèse précoce de l'os traite des processus de décomposition des composés organiques de l'os, avec la recristallisation et l'échange précoce d'ions entre l'eau environnante et la matrice osseuse. Cette première étape se termine par le remplacement du collagène par des minéraux. Une fois ce remplacement terminé, la diagenèse tardive de l'os fossile commence.

Diagenèse précoce :

La diagenèse précoce peut être divisée en trois étapes: une première, caractérisée par une activité microbienne intense, une deuxième étape plus durable, sans activité microbienne, mais une décomposition chimique du collagène et enfin une troisième étape, pendant laquelle le remplacement du collagène gélatinisé par de l'apatite et d'autres minéraux a lieu.

Le processus le plus important au début de la diagenèse est la **dégradation du collagène**. La dégradation du collagène est due en partie à une lixiviation non biotique et en partie à une **activité microbienne** à la surface des os. Le collagène sera gélatinisé par scission successive en chaînes de protéines plus courtes (Collins et al. 1995). Ce processus de gélatinisation dépend du pH et est considérablement plus rapide dans des conditions de pH élevé que dans une eau neutre. La gélatinisation croissante du collagène permet une hydratation accrue de la protéine ce qui entraîne des **fissures des structures minérales**. Ces fissures radiales sont très importantes pour la diagenèse ultérieure, car elles ouvrent des voies droites et courtes dans tout le volume osseux, ce qui augmente les processus d'échange avec les éléments autour de l'os. Cela signifie que la décomposition et la lixiviation du collagène déjà gélatinisé se poursuivent et que l'échange d'ions entre l'eau et le minéral osseux est renforcé. La dernière étape de la diagenèse précoce concerne la **recristallisation de l'apatite**. L'hydroxyapatite est modifiée par recristallisation et par substitution de OH^- et de PO_4^{3-} par Cl^- , F^- et CO_3^{2-} et devient une fluorapatite à haute teneur en carbonate. De plus, Ca^{2+} dans l'apatite est remplacé par des ions métalliques, tels que Fe^{2+} , U^{4+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} . L'hydroxyapatite s'est

transformée en une apatite à haute teneur en carbonate, qui présente également une augmentation de la teneur en fluorure.

Le fer ferrique mobile (Fe^{3+}) approchant de l'os sera réduit en fer ferreux (Fe^{2+}). De plus, le collagène en décomposition libère du sulfure dans l'eau. Le sulfure de fer précipité FeS est ensuite transféré dans de la pyrite (FeS_2). La formation précoce de pyrite diagenétique dans les sédiments est généralement contrôlée par la quantité de sulfure, le fer étant généralement disponible en excès. La pyrite est très commune dans les os fossiles des dépôts marins et sa teneur en pyrite est souvent beaucoup plus élevée.

Diagenèse tardive :

La plupart des réactions chimiques sont beaucoup plus lentes que lors de la diagenèse précoce. Les conditions d'oxydo-réduction ne sont plus contrôlées par l'os lui-même, mais par les conditions environnementales. La précipitation dépendante du pH est le processus de formation des minéraux le plus important en fin de diagenèse. Les ions métalliques dans les solutions aqueuses, qui entrent en contact avec l'os fossile ou y pénètrent par diffusion rencontrent des conditions de pH élevé et précipitent sous forme d'hydroxydes. Les minéraux formés lors de la diagenèse tardive ne se trouvent que dans des cavités toujours accessibles aux fluides externes. De nombreux oxydes dans les os fossiles sont initialement précipités sous forme d'hydroxydes par le pH élevé de la diagenèse tardive. Le fer ferreux peut être précipité à partir de solutions aqueuses sous forme de $\text{Fe}(\text{OH})_2$, qui sont ensuite transformées en hématite (Fe_2O_3) ou en goéthite (FeOOH). Enfin on peut observer la formation de calcite ou de silice.





Early diagenesis			late diagenesis
			
microbial activity	gelatinization of collagen	radial microcracks	Inorganic reactions
pH 8-10	pH 8-10	pH 8-10	pH 8-10
Eh -200mV	Eh 0mV	Eh controlled by environment	Eh controlled by environment
Pyrite formation by sulfide precipitation			Pyrite formation by pH dependent precipitation
			Precipitation of ferrous hydroxide and transformation into goethite or hematite
			Precipitation of manganese hydroxide and transformation into pyrolusite.
			Calcite formation
			Silica formation

Figure 5: Schéma général des étapes successives de la fossilisation de l'os et les principaux minéraux susceptibles d'être déposés lors des diverses étapes de la diagenèse (Pfretzschner 2004)

2.2. Les tissus dentaires minéralisés

L'organe dentaire est constitué principalement par trois tissus: l'émail, la dentine et la pulpe. Le complexe dentino-pulpaire est protégé en coronaire par l'émail et en radiculaire par le cément.

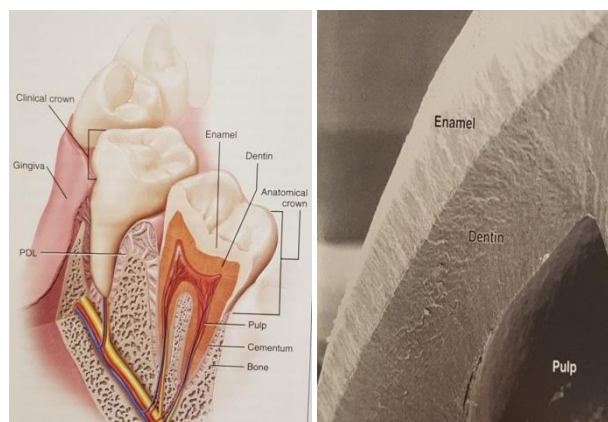


Figure 6: Coupe au microscope électronique au niveau de la couronne dentaire (Nanci 2012)

2.2.1. L'émail

L'émail est sécrété à la périphérie de la dentine coronaire par les améloblastomes, dérivés de l'ectoderme (épithélium). Il est acellulaire, avascularisé et non innervé.

Il constitue, en raison de son très fort degré de minéralisation (tissu le plus minéralisé de l'organisme), la structure la plus dure de l'organisme.

Elle est constituée d'une phase minérale, organique et aqueuse.

Composition de l'émail

	Composition globale	
	En poids	En volume
Phase minérale	70%	50%
Phase organique	20%	30%
Phase aqueuse	10%	20%

Tableau 4 : composition de l'émail mature

Phase minérale : Elle correspond à 96 % de la masse de l'émail soit 87 % du volume et est essentiellement constituée d'hydroxyapatite polysubstituée

La plus petite unité composant l'émail est le monocristal d'hydroxyapatite de formule théorique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Chaque cristal d'hydroxyapatite est composé de la juxtaposition d'unités élémentaires de 18 ions formant la maille élémentaire qui est de structure hexagonale. Celle-ci a une base losange de 0,942 nm de côté (plan a et b) dont les angles ont respectivement 120° et 60° ; La hauteur ou axe c, perpendiculaire au plan a-b, est de 0,688 nm. Les ions Ca sont répartis de manière répétitive.

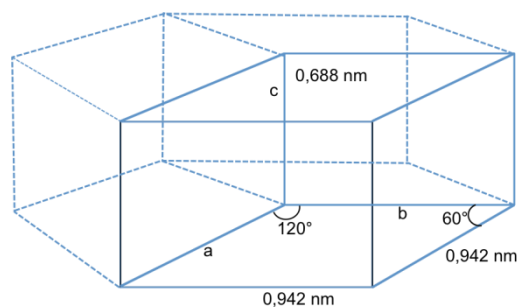


Figure 7 : Structure du cristal d'hydroxyapatite

La projection sur le plan (001) de la structure de l'Hydroxyapatite polysubstitué (figure 8), fait apparaître deux types de tunnels qui sont parallèles à l'axe c :

- les tunnels centrés sur l'axe sénaire (= Axe de symétrie autour duquel un cristal reprend six fois la même position dans l'espace au cours d'une rotation de 360°), figurés en pointillés larges, sont les plus volumineux (0,3-0,45 nm) et sont occupés de manière axiale par les anions monovalents (OH, F). Ces tunnels sont bordés par six ions Ca^{2+} , notés calcium II, qui s'organisent en deux triangles équilatéraux décalés. Ce sont des voies d'accès privilégiées aux substitutions en site anionique (en remplacement des ions OH, F) ou cationique (en remplacement des ions Ca^{2+} II), voire à de petites molécules (H_2O , glycine) (Montel 1980).
- les tunnels centrés sur l'axe ternaire, plus petits (0,25 nm), contiennent les quatre autres ions Ca^{2+} de la maille élémentaire, notés calcium I (figurés en pointillés fins), organisés en colonnes calciques.

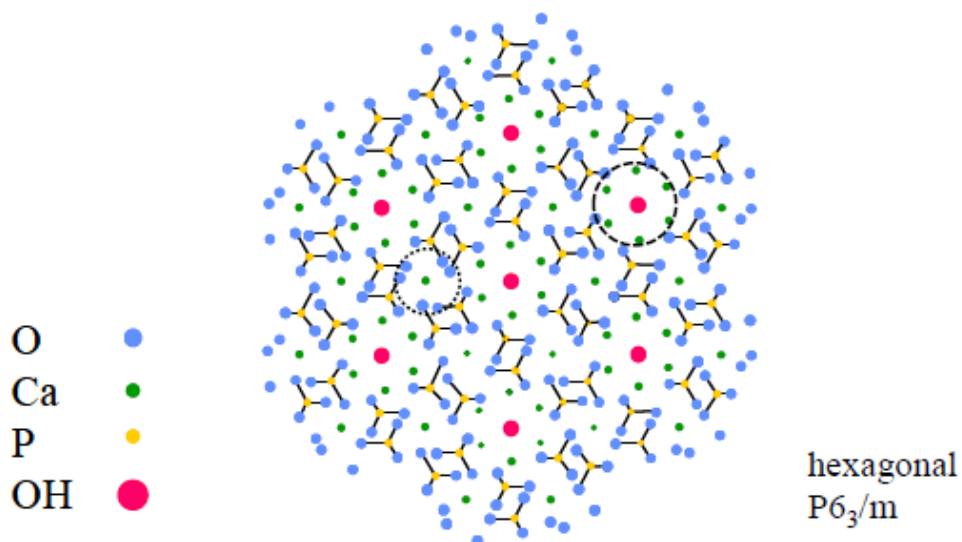


Figure 8: Structure cristallographique de la maille d'hydroxyapatite représentée en projection selon le plan (001) (Grunenwald 2014)

Ces composés ont des propriétés structurales qui leur confèrent une grande adaptabilité, notamment vis-à-vis des substitutions ioniques possibles.

En fonction de leur nature, les ions de substitution se répartissent sur les trois sites qu'offre la structure apatitique. Les sites accueillant les ions hydroxydes (OH⁻) et ceux accueillant les ions phosphates (PO₄³⁻) sont appelés respectivement sites A et sites B.

	Substitutions	Formules chimiques théoriques	Notations
Site Ca ²⁺	Ag ⁺	Ca _{10-x} Ag _x (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x}	Ag-HA
	Mg ²⁺	Ca _{10-x} Mg _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Mg-HA
	Sr ²⁺	Ca _{10-x} Sr _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Sr-HA
	Zn ²⁺	Ca _{10-x} Zn _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Zn-HA
Site B (PO ₄ ³⁻)	CO ₃ ²⁻	Ca _{10-x} (PO ₄) _{4-6-x} (CO ₃) _x (OH) _{2-2x}	C _B -HA
	HPO ₄ ²⁻	Ca _{10-x} (PO ₄) _{4-6-x} (HPO ₄) _x (OH) _{2-2x}	
	SiO ₄ ⁴⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) _{4-6-x} (SiO ₄) _x (OH) _{2-2x}	Si-HA
Site A (OH)	Cl ⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} Cl _{2x}	Cl-HA
	CO ₃ ²⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} (CO ₃) _x	C _A -HA
	F ⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} F _{2x}	F-HA
Mixte Sites A/B	CO ₃ ²⁻	Ca _{10-x+u} (PO ₄) _{4-6-x} (CO ₃) _x (OH) _{2-x+2u-2y} (CO ₃) _y	C _{A/B} -HA

Tableau 5: Elément pouvant se substituer dans l'hydroxyapatite (Palard 2007)

Dans l'émail, les cristaux d'hydroxyapatite ont la forme de longs rubans flexueux. La maille cristalline comporte un certain nombre de défauts d'organisation et de dislocations vis. Un certain nombre d'ions peuvent manquer ou présenter des défauts d'alignement.

Le monocristal d'hydroxyapatite est entouré d'une couche hydratée qui constitue d'une part une zone d'échange et de diffusion ionique, d'autre part une zone de liaison avec la phase organique.

D'une manière générale, les substitutions ioniques modifient les paramètres de maille de la structure apatitique. Des études ont montré que la substitution des ions Ca²⁺ par Sr²⁺ ou Mg²⁺ augmente la solubilité de l'apatite (Shepherd 2011, 2012). A contrario, l'addition de Cr³⁺ conduit à une augmentation de la taille des grains d'HA et une réduction de la solubilité du matériau (Shepherd 2012).

Surface des cristaux d'apatite:

Les nanocristaux d'apatite sont recouverts d'une couche hydratée (ou domaine non apatitique) assez labile mais structurée contenant des ions bivalents (Ca²⁺, HPO₄²⁻, CO₃²⁻) relativement mobiles permettant des échanges ioniques avec les fluides environnants (Combes et al. 2016). Lors du vieillissement des nanocristaux en solution, la proportion d'ions dans la couche

hydratée diminue et celle des ions dans le domaine apatitique augmente qui permet une maturation cristalline. Ce phénomène peut être ralenti (mais jamais arrêté) en présence d'inhibiteurs dans la couche hydratée (Mg^{2+} , CO_3^{2-}) (Rey et al. 2014).

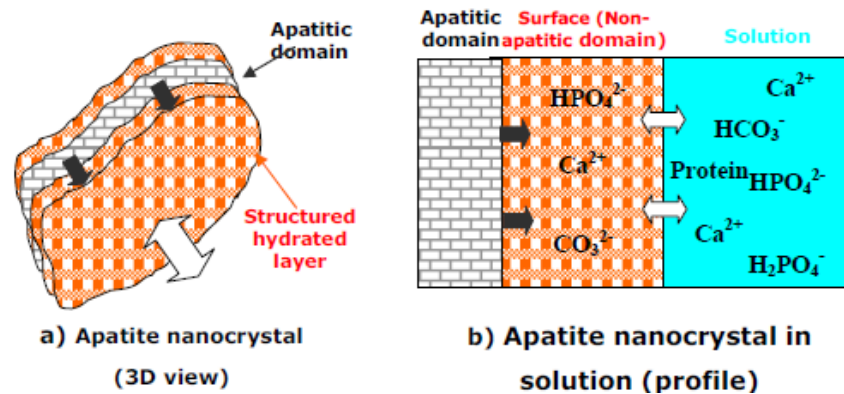
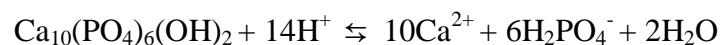


Figure 9: Schéma de la constitution des nanocristaux d'apatite biologique (Combes et al. 2016)

L'hydroxyapatite atteindra un équilibre avec l'eau environnante au contact de sa surface selon l'équation suivante :



Ainsi, une diminution de pH (augmentation de la concentration en H^+) ou élimination des ions calcium conduira l'équilibre vers la droite et l'hydroxyapatite se dissout. Cette équation montre également que les environnements pauvres en phosphate peuvent conduire à la déminéralisation de l'hydroxyapatite (Turner-Walker 2008).

Phase organique : Elle forme un gel thixotropique entourant les cristaux d'apatite, elle est essentiellement constituée de protéine à 58 % (amélogénines et énamélines), de lipides à 40 % (phospholipides, phospholipoprotéines) et d'eau à 2 %.

Elle représente 0,6 % du poids de l'email.

Phase aqueuse : Elle représente 3,4 % du poids de l'email pour un volume de 11 %.

Elle est présente sous forme libre (1 %) et est présente surtout dans les espaces intercrystallins et aussi sous forme liée (2,4 %) qui contribue à la formation d'une coque protéinique autour des cristallites. Cette matrice hydratée est indispensable aux échanges et diffusions ioniques.

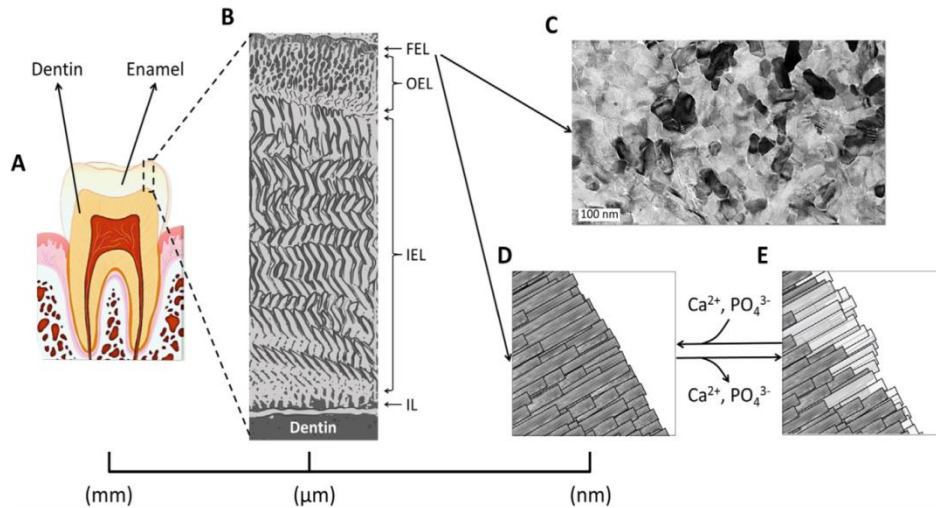


Figure 10: Structure de l'émail dentaire à l'échelle macroscopique (A), microscopique (B) et nanométrique (C, D, E). IL= Initial enamel layer ; IEL= Inner enamel layer ; OEL : other enamel layer ; FEL : Final enamel layer (Abdallah et al. 2016)

Structure de l'émail

La plus petite unité composant l'émail est le monocristal d'hydroxyapatite de formule théorique $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, dont la cristallisation se fait dans un système hexagonal. Ces éléments vont s'adosser entre eux pour former des cristallites à la base de la microstructure amélaire. L'émail contenant des nanocristallites plus petite présente une dureté et une résistance à la fracture plus importante et une teinte plus claire par rapport à un émail contenant des nanocristallites plus grande. Les nanocristallites subissent des cycles de dissolution et re-précipitation, en particulier à la surface de l'émail en éruption, et sont capables d'incorporer des quantités relativement importantes d'ions carbonates (Abdallah et al. 2016).

La structure de l'émail passe par deux types d'organisations : l'émail non prismatique (ou aprismatique) d'une part, et l'émail prismatique d'autre part.

L'émail est donc constitué de 3 couches (de l'intérieur vers l'extérieur) : l'émail aprismatique interne, l'émail prismatique et enfin l'émail aprismatique externe.

➤ Email non prismatique (Goldberg 2007) :

- la bordure non prismatique interne : correspond au stade où les améloblastes devenus sécréteurs sont dépourvus de prolongement de Tomes. Le produit de la sécrétion s'assemble sous la forme de fibrilles perpendiculaires à la jonction amélodentinaire.
- la bordure non prismatique externe : phase de transition où les améloblastomes ne différencient plus de prolongement de Tomes. La fin de la sécrétion s'accompagne de l'amplification de la formation d'email interprismatique, au détriment des prismes qui s'amenuisent et finissent par disparaître.

➤ Email prismatique

Dans l'email dentaire humain, les prismes constituent les sous unités structurales de l'email. Le prisme a un diamètre de 3µm. Au sein d'un prisme, quelques milliers de cristallites sont réunis, disposés en éventail.

Les prismes de l'email sont des cordons minéralisés qui parcourent l'email, de la jonction amélo-dentinaire à la surface de la dent. Ils ont une section en trou de serrure, la partie renflée ou cœur des prismes se prolonge par une partie mince ou queue de prisme. Les prismes sont imbriqués les uns dans les autres.

En coupe longitudinale, on peut voir que chaque prisme est bordé de part et d'autre par une fine bande d'email interprismatique (réseau continu d'email interprismatique avec un aspect de gâteau de cire d'abeilles).

En section transversale, le prisme est entouré soit totalement, soit partiellement par de l'email interprismatique. Il ressemble à un trou de serrure, avec la partie supérieure orientée vers la couronne de la dent et la base orientée vers la racine.

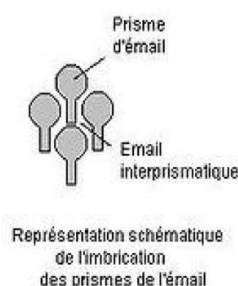


Figure 11 : Prisme d'email en section transversale

A l'interface entre prisme et interprisme, on trouve une gaine, fine bordure non minéralisée, enrichie en matrice organique.



Figure 12 : Coupe émail prismatique (Nanci 2012)

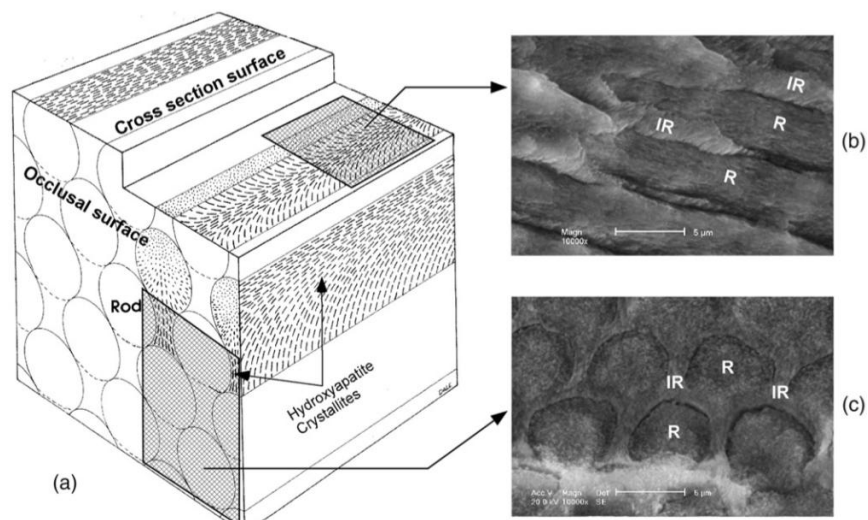


Figure 13: Schéma (a) et image de microscopie à balayage d'une section longitudinale (b) et transversale (c) des prismes d'émail – Les échantillons ont été mordancés à l'acide phosphorique à 37 % pendant 5 secondes.

R = « rod » en anglais, prisme d'émail ; IR = « interrod », substance interprismatique (He et Swain 2008)

Aspect externe de l'émail :

Dans la zone interne de l'émail, il existe une succession de bandes sombres nommées diazonies (formées de prismes sectionnés transversalement) et de bandes claires parazonies (prismes orientés longitudinalement). L'ensemble de ces bandes constitue **les bandes de Hunter-Schreger** et participent à la résistance de la structure amélaire.

En coupe longitudinale, on observe des arceaux concentriques au sommet des cuspidés qui forment les stries de Retzius. Formées par la variation du diamètre des prolongements de Tomes, ces bandes attestent de la croissance de l'émail de façon similaire aux anneaux de croissance d'un arbre.

Des lignes formées par les stries de Retzius à la surface de l'émail ayant pour origine les parois latérales, forment des sillons légèrement dépressifs, en coup d'angle, nommé périkymaties. Ces dernières forment à la surface de la dent un anneau continu.

La ligne néonatale sépare l'émail formé avant et après la naissance.

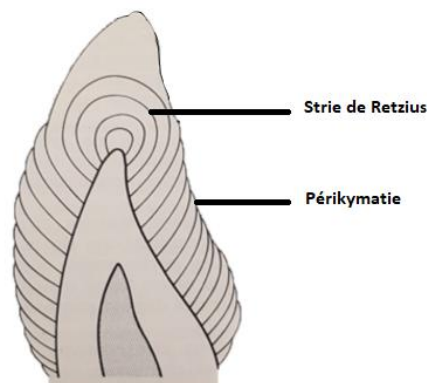


Figure 14: Schéma d'organisation des stries de Retzius et bandes de Hunter-Schreger (Kaqueler et al. 1989)

2.2.2. La dentine

Tissu conjonctif minéralisé avasculaire, constitue la majeure partie de la masse de la dent et délimite une cavité interne coronaire et radiculaire renfermant le mésenchyme pulpaire. Elle est synthétisée par les odontoblastes (11000 cellules par mm^2). L'apposition de dentine se poursuit, tant que la dent conserve sa vitalité, en direction centripète, aux dépens du volume pulpaire.

La dentine est recouverte au niveau coronaire par l'émail qui la protège du milieu extérieur et au niveau radiculaire par le cément où s'ancrent les fibres du desmodonte.

Composition de la dentine :

La dentine se compose :

- Une phase minérale sous forme de cristaux d'hydroxyapatite représentant 70 % en poids et 50 % en volume ;
- Une phase organique, composé à 90 % de collagène de type 1 et de 10 % des protéines non collagéniques composées de protéines phosphorylées. Elle correspond à 20 % du poids de la dentine et 30 % de son volume.
- Une phase aqueuse, correspondant à 10 % en poids et 20 % en volume

	Composition globale	
	En poids	En volume
Phase minérale	70%	50%
Phase organique	20%	30%
Phase aqueuse	10%	20%

Tableau 6: Composition globale de la dentine

Structure de la dentine :

DENTINE PERIPHERIQUE : La dentine périphérique, sous-jacente à l'émail (en coronaire), est constituée du manteau dentinaire sur une épaisseur de 15 à 30 μm . Cette couche est atubulaire et hypominéralisée. Au niveau périphérique de la racine, on retrouve la couche translucide de Hopewell-Smith et la couche granuleuse de Tomes sur une épaisseur de 8-15 μm chacune.

DENTINE CIRCUMPULPAIRE : Elle se situe en dessous du manteau dentinaire. Elle est caractérisée par la présence des tubuli dentinaires qui la parcourent de la jonction amélo-dentinaire à la pulpe.

Au sein de la dentine circumpulpaire, on distingue la dentine intercanaliculaire qui forme un réseau continu, qui dérive de la transformation de la prédentine en dentine. Et la dentine

péricanaliculaire qui se forme en anneau ou en tubule autour de la lumière des canalicules dentinaires. On distingue une dentine primaire entre le début de la formation jusqu'à la mise en fonction de la dent sur arcade, et une dentine secondaire qui est secrétée quant à elle tout au long de la vie au détriment de la chambre pulpaire dont le volume diminue avec l'âge.

La dentine est en contact étroit avec la pulpe par l'intermédiaire des prolongements cytoplasmiques des odontoblastes, logés dans des tubulidentinaires. Ces tubuli s'étendent sur la presque totalité de l'épaisseur dentinaire, leur diamètre et leur nombre diminuent depuis la jonction pulpo-dentinaire jusqu'à l'émail.

Les tubules, à proximité de la chambre pulpaire, sont bien délimités ; en revanche, les tubules situés à l'apex présentent un aspect allongé et filiforme alors que sur dent archéologique il n'y a que des tubules filiformes et plus denses (Marchand et al. 2018).

Chaque tubule est entouré par une dentine hyperminéralisée, appelée dentine périlitubulaire, qui ne contient pas de collagène.

Comme tous les tissus, la dentine va subir un vieillissement physiologique. Il débute à l'apex et croit en direction coronaire ; on parle alors de dentine sclérotique. Il s'agirait d'une dissolution des cristaux d'hydroxyapatite inter tubulaires puis d'une redistribution dans la lumière des tubules qui aboutirait à son occlusion entraînant une modification de l'indice de réfraction au travers du tissu, se traduisant par un aspect de translucidité à la lumière (Marchand et al. 2018).

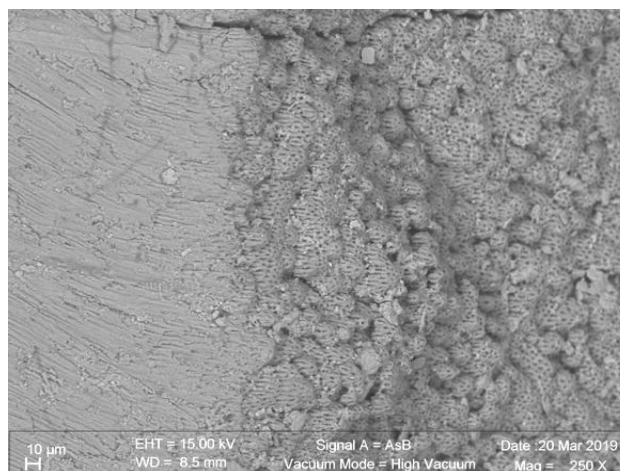


Figure 15: Image au MEB de la dent dentine de l'échantillon P2

2.2.3. Le ciment

Le ciment est un tissu conjonctif minéralisé, élaboré par les cimentoblastes recouvrant les racines. Le ciment constitue un élément majeur de l'appareil d'ancrage de la dent avec l'os alvéolaire et le ligament alvéolodentaire.

En raison de l'apposition cémentaire permanente, qui se produit tant que la dent est présente sur l'arcade, l'épaisseur du ciment s'accroît progressivement avec l'âge, notamment au niveau de l'apex.

Composition du ciment :

Le ciment est composé de :

- Phase minérale à hauteur de 65 % du poids du ciment, essentiellement sous forme de cristaux d'hydroxyapatite.
- Phase organique à 23 % du poids, à dominante collagénique (type I) associée à des complexes glycoprotéïques et mucopolysaccharidiques.
- Phase aqueuse de 12 %.

Structure du ciment:

Il existe différents ciments, selon leur structure et leurs compositions, exposés par Goldeberg M. sur le tableau suivant :

Cément acellulaire afibrillaire composé de fines granules formant un réseau	Afibrillaire Épaisseur allant de 1 à 15 µm	Acellulaire (homogène, dépourvu de cellules et de fibrilles, situé à la jonction amélodentinaire) Formation en rapport avec la richesse en phosphatase alcaline du ligament alvéolodentaire Ostéopontine sérique Fonction inconnue
Cément acellulaire à fibres extrinsèques ou ciment primaire	À fibres extrinsèques Épaisseur allant de 30 à 230 µm	Acellulaire (les fibres de collagène forment des fibres de Sharpey. Il n'y a pas de cellule. Situé du tiers cervical jusqu'au deux tiers de la racine) Source sérique d'ostéopontine Ancrage de la dent
	Mixte à fibres extrinsèques et intrinsèques. Se forme une fois qu'est formée la moitié cervicale de la racine : fibrilles de collagène et fibres de Sharpey	Acellulaire Adaptation apicale et interradiculaire
Cément mixte, stratifié appelé antérieurement ciment secondaire	Cément mixte cellulaire et stratifié Chez l'humain : au tiers apical de la racine ainsi qu'à la furcation Épaisseur allant de 100 à 1000 µm	Cellulaire : cémentocytes cellules présentes dans les lacunes, entourées de ciment minéralisé, donnant au ciment un aspect osseux Adaptation et ancrage radiculaire
	À fibres intrinsèques Présent au tiers apical et à la moitié de la racine et dans la zone de furcation	Cément cellulaire – mais pas de fibres de collagène s'étendant en continuité avec les fibres du ligament parodontal
Cément intermédiaire	Partie mal définie Située à l'extérieur de la couche granulaire de Tomes 15-35 µm d'épaisseur	Associée à la phase initiale de dentinogenèse?

Tableau 7 : Les différents ciments selon leurs structures et compositions (Goldberg 2015)

3. ETUDE DE LA DIAGENESE DES TISSUS DENTAIRES IMMERGES EN MILIEU SALIN NATUREL : LE CANYON DE BANYULS SUR MER.

3.1. Objectifs

Des dents ont été immergées (en mai 2017) pendant 12 mois dans le canyon de Banyuls sur mer en Méditerranée puis elles ont été analysées au microscope électronique à balayage et à la microsonde électronique, à l'institut des Science de la Terre de Paris – UMR 7193 (Campus Pierre et Marie Curie, Sorbonne Université). Nous rechercherons toutes modifications de structures ou de compositions chimiques, mais aussi la présence d'incorporation d'éléments exogènes.

L'objectif de l'étude était donc de réaliser une analyse qualitative (tissus atteints) et quantitative (composition organique) des modifications diagénétiques (= modifications chimiques et microstructurales) de tissus dentaires immergés dans un milieu salin et à haute pression.

Cela nous permettra de déterminer:

- si la diagénèse peut influencer sur les indices connus et utilisés en odontologie médico-légale
- si les modifications observées peuvent apporter des nouveaux indices pour d'éventuelles enquêtes judiciaires.

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Matériel biologique

➤ Critères de sélection des échantillons dentaires

Le matériel biologique étudié est constitué de 12 échantillons dentaires (dont 6 cas témoin) issus de 6 patients différents (2 prémolaires controlatérales saines par patient) choisis parmi 30 échantillons (15 patients). Ces dents proviennent d'avulsions effectuées à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière ou de cabinets privés, dans le cadre d'extractions de prémolaires pour plan de traitements orthodontiques. Les sujets sont âgés de 12 ou 13 ans, 5 de sexe féminin et 1 de sexe masculin.

Chaque patient donneur des échantillons a signé une « clause d'information et de non-opposition à l'utilisation des dents extraites », conformément à la loi n°94-658 du 29 juillet 1994 relative au don et à l'utilisation des éléments et produits du corps humain.

➤ Conditionnement des échantillons dentaires

Chaque prélèvement est identifié en préservant l'anonymat (seuls l'âge et le sexe sont précisés). Les dents extraites sont conservées sans protocole de nettoyage dans des tubes de prélèvement stérile avec du sérum physiologique à une température de 2 à 4°C.

Nous avons deux types d'échantillons:

- échantillons témoins T0 non immergés
- échantillons T1 immergés pendant 1 an

Les tubes sont gravés par un chiffre arabe (2, 5, 8, 9, 11, 12) pour les dents témoins (T0) et par le chiffre romain homologue (II, V, VIII, IX, XI, XII) pour les dents immergées (T1). Les échantillons sont répartis à raison d'une dent par tube de prélèvement en plastique. Chaque échantillon immergé est perforé de plusieurs trous afin de permettre une large immersion.

Patient	Echantillons		Age (année)	Sexe	Numéro des dents	
	T0	T1			T0	T1
1	2	II	13	F	35	45
2	5	V	12	F	35	45
3	8	VIII	13	F	35	45
4	9	IX	13	F	34	44
5	11	XI	13	M	14	24
6	12	XII	13	F	14	24

Tableau 8: Description des échantillons analysés

Brown et al. (2002) ont suggéré que, pour utiliser la composition élémentaire des dents humaines en tant qu'indicateurs environnementaux, il est nécessaire de se limiter à un seul type de dent (Brown et al. 2002). C'est donc pour cette raison que nous avons étudié uniquement des prémolaires.

3.2.2. Conditions d'immersion

➤ Zone d'immersion : Canyon de Banyuls sur mer

Le canyon de Lacaze-Duthiers (Banyuls-sur-Mer) se situe dans le parc naturel marin du golfe du Lion en Mer Méditerranée. Ce dernier s'étend sur 400 km de zone côtière entre le cap Creus (Espagne) et le cap Croisette (Marseille, France).

Les canyons entaillent le plateau continental méditerranéen, facilitent les échanges entre les eaux côtières et les eaux profondes et forment des habitats essentiels à la compréhension et à la gestion de la biodiversité des zones côtières et du plateau continental. Ils constituent un lieu de refuge, de nurserie et d'exploitation vers le plateau continental pour de nombreuses espèces (larves de poissons, décapodes, cétacés...) (Fourt, Goujard 2012)

Les coordonnées GPS de la zone de d'immersion des dents sont: N42°32.720 / E03°25.304 à 545m de profondeur.

Le canyon Lacaze-Duthiers est une vallée profonde qui entaille le plateau continental jusqu'à plus de 1000 m de profondeur. La tête de canyon à l'extrémité sud du Golfe du Lion n'est distante que de 15 miles nautiques de la côte. Elle abrite de larges populations d'espèces profondes de coraux dont la densité et l'abondance sont exceptionnelles pour la Méditerranée.

La circulation des masses d'eau qui favorise le transport de matière organique dans le canyon est une composante-clé de cet écosystème. Elle est intimement liée au régime climatique. Sous l'influence de la Tramontane et du Mistral en hiver, les eaux de surface refroidies et enrichies en sel deviennent plus denses que les eaux profondes et s'écoulent vers la plaine abyssale. Ces événements appelés 'cascading' durent quelques semaines, entraînant de fortes quantités de sédiment et débris végétaux.

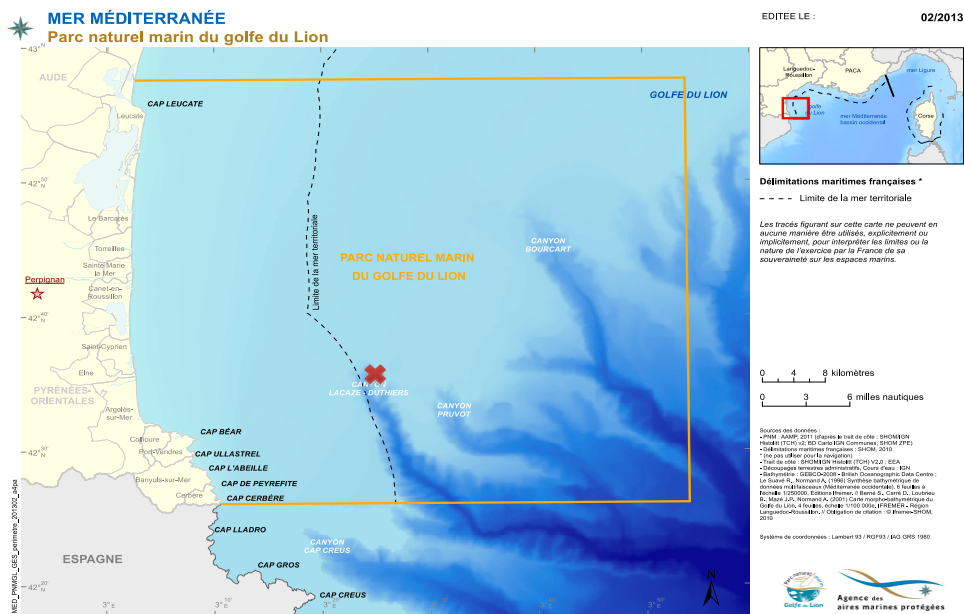


Figure 16: Coordonnes GPS de la zone d’immersion (google maps)

Nos dents ont été immergées dans la zone du plateau continental appelé l’étage bathyal (72 % de la Mer méditerranée). L’étage bathyal s’étend du rebord du plateau continental (100 m) et s’enfonce le long de la pente continentale jusqu’à la partie des fonds à pente adoucie qui se trouve immédiatement au pied de ce talus (3000 m).

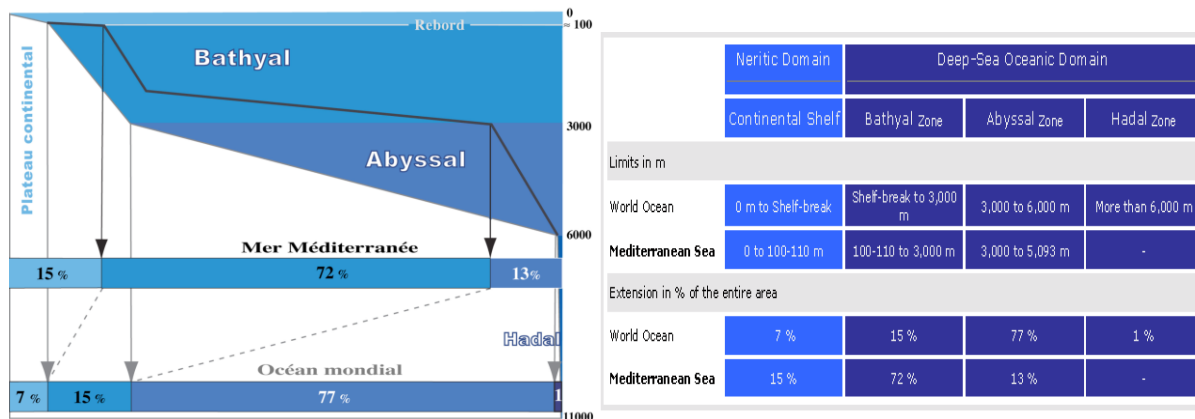


Figure 17: Comparaison de l’extension, en pourcentage, des étages entre l’océan mondial et la mer Méditerranée qui ne représente que 0,82 % de la superficie totale de l’océan mondial et 0,35 % de son volume (Emig et Geistdoerfer 2004)

Dans cet étage, plusieurs échanges ont été distingués :

- les échanges historiques à travers les changements de faunes depuis le Pliocène et durant les glaciations du Quaternaire ;

- les échanges bathymétriques au sein des étages bathyaux et abyssaux soumis à des conditions très particulières (homothermie, relative oligotrophie, barrière du seuil de Gibraltar, circulation des masses d'eau) ; plus profonde est l'extension des espèces en mer Méditerranée et plus large est leur distribution hors Méditerranée ;
- les échanges géographiques avec des affinités étroites entre mer Méditerranée et océan Atlantique. Le cas des espèces endémiques reste un problème biogéographique. Les espèces ont toujours une distribution plus profonde en allant vers l'est et leur taille devient plus petite. Ainsi, la mer Méditerranée profonde actuelle apparaît comme une mer beaucoup plus jeune qu'aucune autre partie de l'océan mondial profond (Emig et Geistdoerfer 2004).

➤ Propriétés du milieu d'immersion

Salinité et composition de l'eau

L'eau de mer est principalement constituée de sodium, magnésium, potassium, chlorure et sulfates. Pour une salinité comprise entre 38 et 38,5 psu¹ (ou g/L) (Emig et Geistdoerfer 2004) et de 38,772 g/L selon Klein et al. (Klein et al. 1999)

Constituant	Symbole	Concentration (g/L)
Chlorure	Cl ⁻	21,40
Sodium	Na ⁺	11,60
Sulfate	SO ₄ ²⁻	3,06
Magnésium	Mg ²⁺	1,295
Calcium	Ca ²⁺	0,416
Potassium	K ⁺	0,390
Bicarbonates	HCO ₃ ⁻	0,145
Brome	Br ⁻	0,066
Strontium	Sr ²⁺	0,027
Bore	B ³⁺	0,013
Fluor	F ⁻	0,001
Total		38,772

Tableau 9: concentration des principaux éléments en eau de mer Méditerranée (Klein et al. 1999)

A notre profondeur d'immersion (545 m) et selon les haloclines réalisés en mer Méditerranée, on retrouve une salinité d'environ 38,7 g/L.

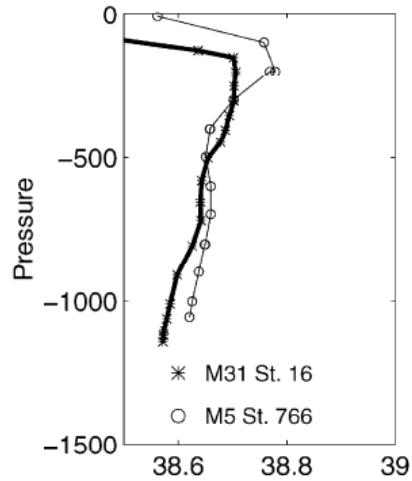


Figure 18: haloclines réalisées en 1985 (cercle) et 1998 (croix) dans la mer Méditerranée (Klein et al. 1999)

Dès 1957, Furnestin avait déjà trouvé cet ordre de grandeur pour la salinité (Furnestin 1960).

Température

On parle d'homothermie (absence de variation de température) de l'ordre de 13 à 13,5°C (Emig et Geistdoerfer 2004) en profondeur de la mer Méditerranée quels que soit la saison. En 1957, Furnestin avait aussi décrit une température de 13°C à 400 m de profondeur dans le Golfe du lion (Furnestin, 1957).

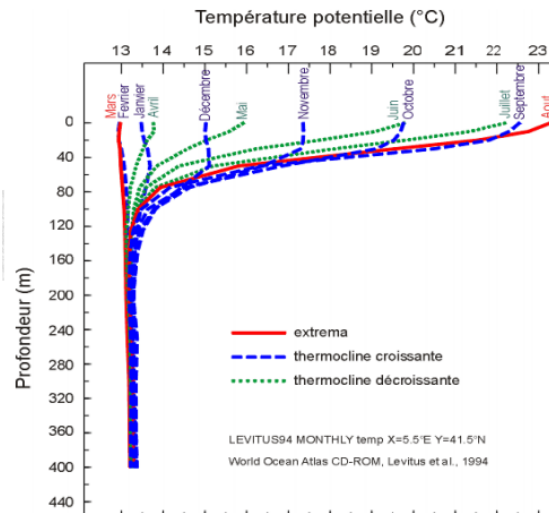


Figure 19: Températures en Mer Méditerranée selon la profondeur (source Word Océan Atlas, 1994)

Lumière

La zone bathyale est aphotique (Fabri et Pedel 2012), où la quantité de lumière est absente pour permettre le développement des végétaux.

PH

Le mélange des sels forme une solution tampon qui explique que le PH de l'eau de mer soit constant et légèrement basique, avec un PH de 8,1.

L'absorption de dioxyde de carbone anthropique (CO_2) par l'océan entraîne des changements dans la chimie des carbonates de l'eau de mer. Le carbone inorganique dissous augmente, alors que la concentration en ions carbonates (CO_3^{2-}) et le pH diminuent. Ce processus, appelé acidification des océans, peut avoir des effets néfastes sur certaines espèces, en particulier les calcifiants (Díaz-Castañeda et al. 2019).

Pression

Pression hydrostatique ou pression relative est définie comme: « tout corps plongé dans l'eau subit une pression résultant de la colonne d'eau qu'il a au-dessus de lui »

La pression relative augmente de 1 bar tous les 10 mètres de profondeur.

La pression absolue est égale à la pression atmosphérique (= 1 bar au niveau de la mer) additionnée à la pression relative. La pression à 550 mètres de profondeur est de 56 bars (par calcul)

La pression hydrostatique entraîne sur l'organe dentaire des barotraumatismes. Ces accidents découlent de la loi de Boyle-Mariotte: « A température constante, le volume d'un gaz et inversement proportionnel à la pression qu'il reçoit ». Le corps composé de nombreuses cavités, va être soumis directement aux variations de pression et de volume engendré lors d'une immersion en milieu hyperbare. Ces barotraumatismes entraînent des fractures appelées « barodontocrexis ». Zadik et Drucker ont montré que 5 des 86 dents immergées pendant 2 minutes en milieu hyperbare, ont été endommagées car présentées toutes des amalgames de mauvaise qualité (Zadik et Drucker 2011).

Teneur en oxygène

Pour connaître la quantité d'oxygène dissous, nous pouvons utiliser la formule de Gageson et Robertson :

$O_2(\text{mg/l}) = (475 - [2,65 \times S]) / [33,5 + T]$ avec S pour la salinité ($\mu\text{mol.kg}^{-1}$) et T pour la température ($^{\circ}\text{C}$). Avec cette formule nous retrouvons une valeur de 8 mg/L soit environ $250\mu\text{mol/L}$.

Plusieurs auteurs ont donné des valeurs de l'oxygène dissous en mer Méditerranée:

La publication de B. Klein et al en 1999, montre une concentration d'oxygène dissous entre 190 et $210\mu\text{mol.kg}^{-1}$ à 500 m de profondeur dans la zone adriatique (Klein et al. 1999).

Furnestin en 1957, affirme que la teneur en oxygène mesurée au Golfe du Lion diminue avec la profondeur. A 400 mètres (profondeur où se situe le minimum d'oxygène) le taux d' O_2 varie entre 3,4 à 4,4 (Furnestin 1960).

Lors de la mission MEDSEA en 2013, il a été décrit une valeur comprise entre 164 et $267\mu\text{mol.kg}^{-1}$ (Hassoun 2014).

El boukhary et al (2002), ont noté une diminution significative des concentration d' O_2 (environ 0,2 % par an) depuis 1988 (El Boukhary, M. S.; Ruiz-Pino, D.; Béthoux, J. P. 2002).

Alcalinité total

Comme les eaux méditerranéennes ont des salinités élevées, leurs alcalinités totales sont également élevées de l'ordre de $2588\mu\text{mol.kg}^{-1}$. Elles présentent une alcalinité supérieure à la Mer Atlantique ce qui confère son rôle en tant que zone de reminéralisation.

La distribution de l'alcalinité totale est principalement fonction de la salinité et des facteurs physiques qui la régulent: les mouvements de masses d'eau, l'évaporation et les précipitations (Hassoun 2014).

Carbonate inorganique totale

Il varie entre 2095 et $2359\mu\text{mol.kg}^{-1}$.

Le bassin occidental pourrait jouer un rôle significatif dans la séquestration du CO_2 atmosphérique, efficacement transféré de la surface vers la profondeur. Suite à une étude réalisée en mer Méditerranée des concentrations en carbonate inorganique élevées ont été détectées dans la zone de minimum d'oxygène. Ce fait est une conséquence directe de l'émission de CO_2 par la respiration des organismes et la décomposition des déchets organiques. L'augmentation de la température des eaux méditerranéennes favorise l'augmentation de la pression partielle de CO_2 car le changement thermique dans l'eau de mer

peut modifier les constantes d'équilibre du système de carbonate. La variation saisonnière de carbonate est directement rattachée à l'activité biologique liée à la disponibilité des éléments nutritifs injectés principalement par les apports des rivières (Hassoun 2014).

Hydrodynamisme

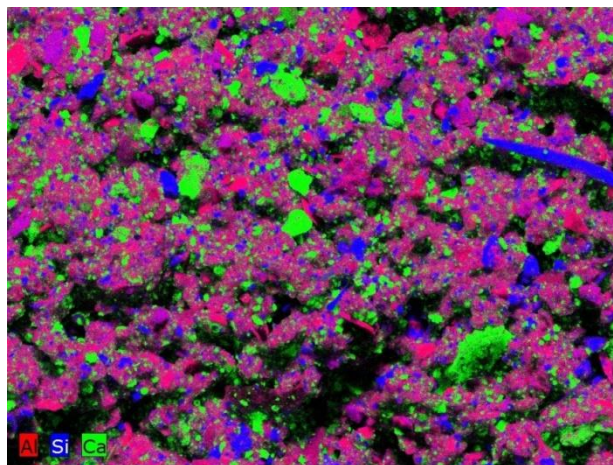
Calme dans les plaines bathyales, courantologie plus accentuée sur la pente continentale, la tête et les flancs de canyons.

Vase

La vase est fluide à compacte, parfois un peu sableuse.

Vastes étendues de vase argileuse, en général compacte, jaunâtre ou gris bleutée, relativement consistante, faisant suite en profondeur à la biocénose des vases terrigènes côtières ou à la biocénose du détritique du large. La granulométrie et la consistance du sédiment ne sont pas homogènes. Les flancs des canyons sont tapissés d'une vase fluide, réduite parfois à une simple pellicule. Des vases sableuses sont assez fréquentes dans l'horizon supérieur, plus exceptionnellement en dessous. Les modifications de granulométrie et de consistance des vases ainsi que l'apport de matière organique exogène provoquent l'apparition de faciès particuliers.

Nous avons analysé la vase au MEB qui était composée d'une prédominance de silicate et de carbonate.



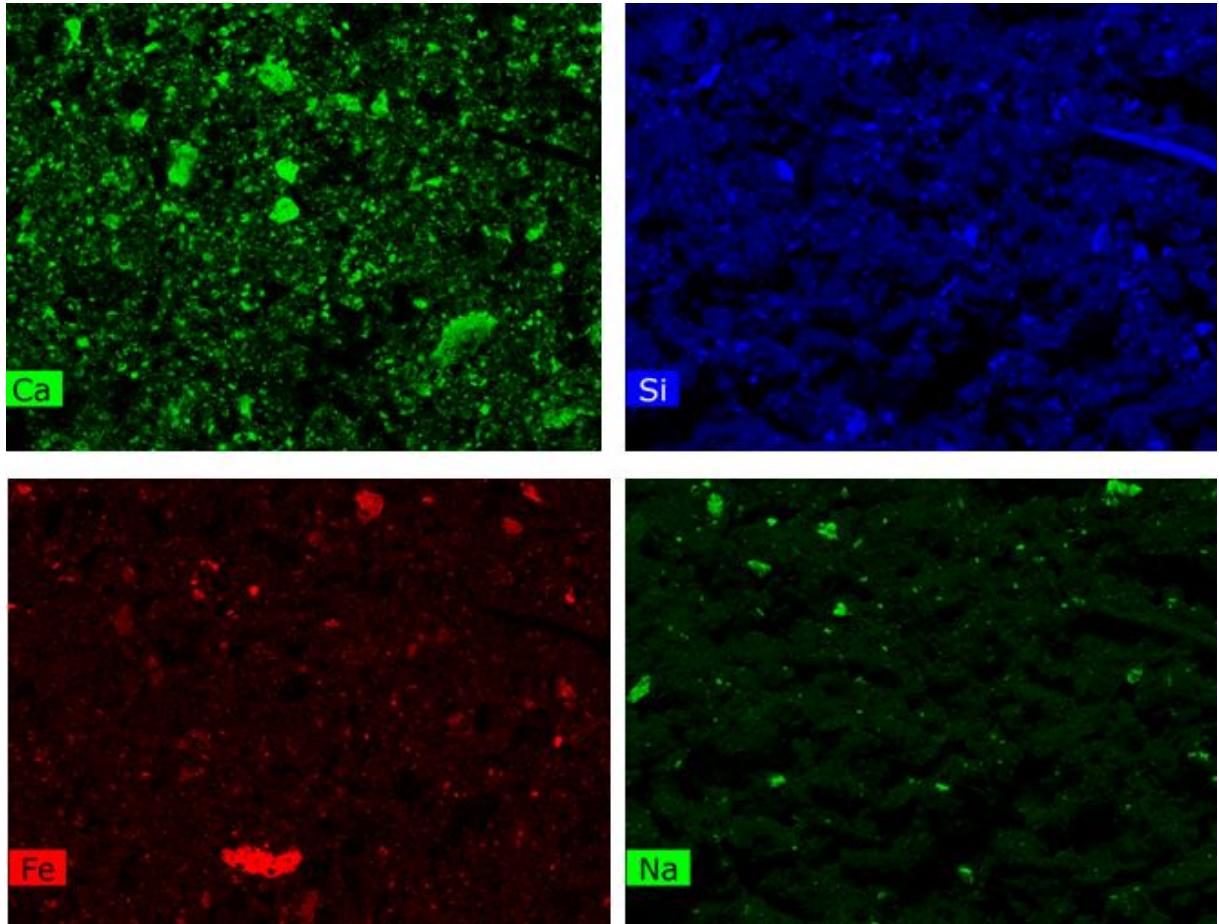


Figure 20: Images au MEB avec fluorescence montrant sur la même image la prédominance (et la localisation) des éléments Calcium (Ca), Silicium (Si), Fer (Fe) et Sodium (Na)

- Analyse spectrométriques

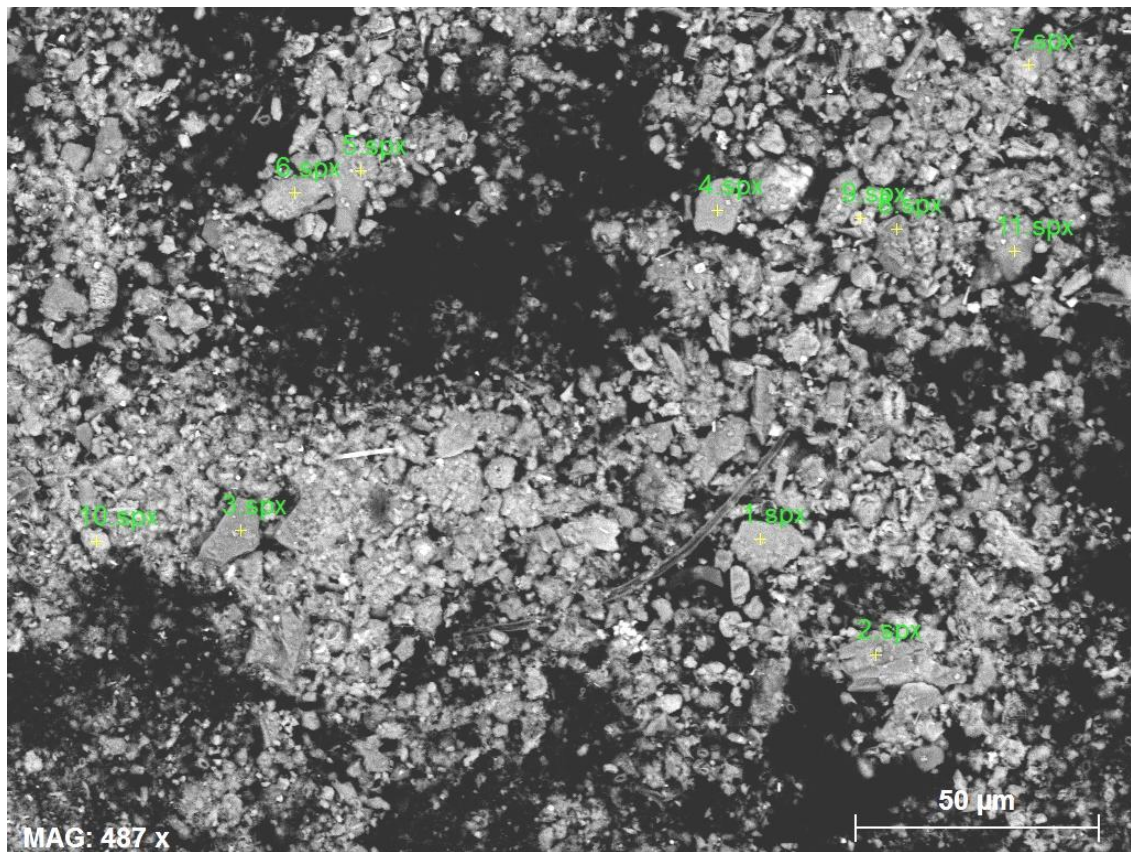


Figure 21: image MEB de la vase

La vase était composée par les éléments suivants:

1. Mica (silicate d'aluminium et de potassium)
2. Silice (quartz)
3. Silice
4. Mica
5. Cocolithe (carbonate de calcium)
6. Mica
7. Chlorite (alumino silicate de fer ou de magnésium)
8. Dolomite (carbonate de calcium et de magnésium)
9. Cocolithe
10. Calcite (carbonate de calcium)
11. Mica

Espèces caractéristiques

l'Agence des aires marines protégées a conçu et mis en œuvre le programme MEDSEACAN «Exploration des têtes des canyons méditerranéens continentaux», un programme ambitieux dont la campagne de terrain s'est déroulée entre novembre 2008 et avril 2010 et qui a pour objectif d'établir un état de référence des têtes de canyon concernant les habitats, les espèces protégées et commerciales, les écosystèmes et les pressions anthropiques.

Le canyon de Lacaze-Duthiers a été étudié et présente d'importantes colonies de *Madrepora oculata*, de *Lophelia pertusa* et de *Desmophyllum dianthus*, qui sont les espèces structurantes majoritaires des communautés de coraux froids. Les deux premières espèces sont coloniales et développent une structure rigide, tridimensionnelle et complexe, offrant des niches écologiques et un substrat pour une multitude d'espèces (Rogers, 1999 in Tursi, 2004). Ces colonies sont présentes à l'état mort mais également vivant.

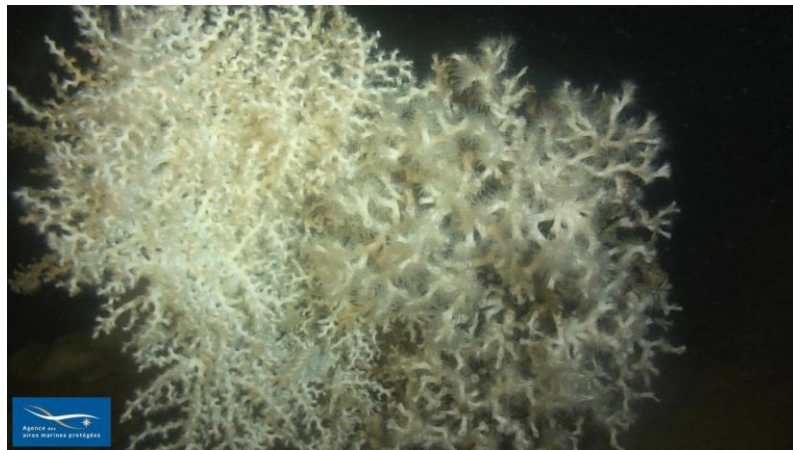


Figure 22: Les deux espèces de coraux blancs, *Madrepora oculata* (gauche) et *Lophelia pertusa* (agence des aires maritimes)

A cette communauté, sont parfois associés des bancs d'huîtres vivantes (*Neopycnodonte cochlear*), des éponges de petite taille, des échinodermes et des décapodes. La biodiversité visible, qu'elle soit sessile ou vagile, est globalement moyenne à forte, en particulier autour des roches et des communautés de coraux froids.

Les coraux blancs ont une structure squelettique rigide. Les colonies les plus anciennes, peuvent dépasser le mètre et leur croissance est lente ce qui laisse à penser, que de tels récifs sont très anciens. Ce type de communauté est considéré comme une véritable relique en Méditerranée et est associé à des environnements très productifs.

La diversité et le nombre de poissons observés durant cette campagne est appréciable (scorpaeniformes (*Scorpena scrofa* et *S. elongata*), baudroies (*Lophius* sp.), congres (*Conger conger*), roussettes, grenadiers, sébastes). D'autre part, un requin centrine (*Oxynotus centrinus*) a été observé en tête de canyon.

Contaminants des sédiments

Contaminants chimiques :

➤ Métaux lourds

2 % à 15 % sont dissous dans l'eau

Les principaux éléments présents en mer Méditerranée figurent dans le tableau ci dessous. Les concentrations sont globalement constantes en profondeur et dans l'espace méditerranéen du fait du faible temps de résidence (Morley et al. 1997).

Elément trace	Symbole	Concentration	
		(nmol.L ⁻¹)	(ng.L ⁻¹)
Silicium	Si	8000,00	224000 ¹
Aluminium	Al	120,00	3240 ¹
Fer	Fe	2,70	150,6 ²
Manganèse	Mn	0,20	11,0 ²
Cuivre	Cu	1,60	101,6 ²
Nickel	Ni	3,50	205,4 ²
Cadmium	Ca	0,12	6,7 ²

Tableau 10: Concentration des métaux lourds (Morley et al. 1997)

➤ Molécules organiques toxiques

La plupart des molécules recherchées appartiennent aux trois groupes identifiés comme toxiques que sont les PolyChloroBiphényles (PCB), les Polluants Organiques Persistants (POP) et les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP).

La plupart de ces substances ont deux caractéristiques:

- une très forte rémanence dans l'environnement due à leur faible biodisponibilité ;
- une importante faculté de bioaccumulation due à leur solubilité dans les graisses, ce qui explique qu'on les retrouve souvent au sommet de la chaîne alimentaire.

C . Préparation des échantillons dentaires à l'immersion

Les différents tubes refermant les échantillons ont été reliés entre eux par du fil d'acier galvanisé de 1,1 mm de diamètre. L'acier galvanisé a été choisi pour sa résistance à la corrosion en milieu humide (par recouvrement d'une couche de zinc).

L'ensemble des échantillons a été placé dans un filet et fixé à la mi Mai 2017, à 545 m de profondeur grâce à une plateforme du CNRS.

Un an plus tard, le 12 mai 2018, les tubes ont été remontés. Ils étaient recouverts de vases et d'algues. Pour le transport jusqu'à Paris, les échantillons ont été placés dans un contenant en plastique rempli d'une eau filtrée et stérilisée. Ils ont été conservés à une température comprise entre 2 et 4°C en attendant d'être préparés et analysés.



Figure 23: vue des échantillons après immersion

3.2.3. Méthode d'analyse et préparation des échantillons

Les échantillons ont été analysés à l'institut des Sciences de la Terre de Paris (ISTeP, UMR 7193) au campus Pierre et Marie Curie DE Sorbonne Université.

Les manipulations ont été encadrées par :

- le Professeur Loïc SEGALEN, directeur de l'UFR Terre, Environnement et Biodiversité ;
- M. Omar BOUDOUMA, ingénieur de recherche, responsable du MEB au sein de l'équipe pétrologie, géochimie, minéralogie magmatique ;

- M. Michel FIALIN, ingénieur de recherche, responsable du centre d'analyse CAMPARIS ;
- M. Nicolas RIVIDI, ingénieur de recherche au sein du centre CAMPARIS.

Les échantillons ont été analysés au microscope électronique à balayage (MEB) et à la microsonde électronique donnant accès à de l'imagerie et à des analyses chimiques avec des résolutions spatiales de l'ordre du micromètre.

A. Préparation des échantillons dentaires avant analyses

La confection d'une demi-coupe des échantillons T0 et T1 a été réalisée grâce à la scie Buehler Isomet® Law Speed Saw et d'un disque diamanté. La demi-coupe dentaire passe par le plus grand axe de la dent dans le sens vestibulo-lingual (ou palatin). La coupe est effectuée sous irrigation constante afin de ne pas dénaturer les échantillons par échauffement. Les coupes sont ensuite séchées et conservées dans un flacon de laboratoire individuel et identifié.

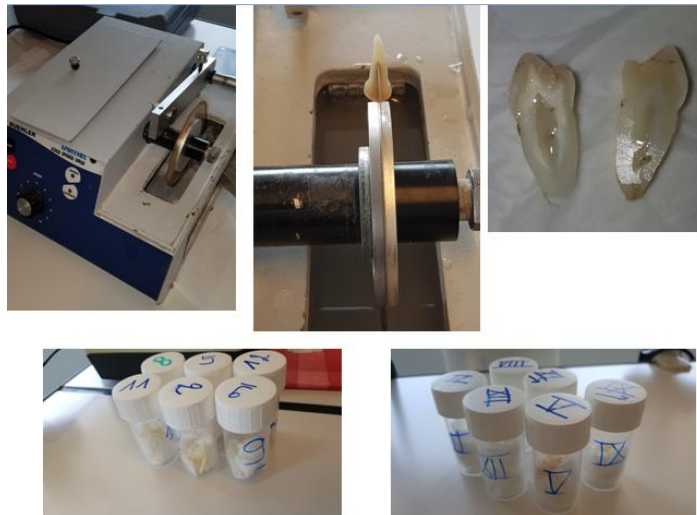


Figure 24: Matériel de découpe des échantillons

Les échantillons sont ensuite mis en lames et polis à l'oxyde de cérium, afin d'être analysés par microscopie électronique. La lame dentaire a une épaisseur de 0,4 mm.



Figure 25: Lame de l'échantillon IX (P9/1)

Afin d'être analysés au MEB et à la microsonde électronique, les lames doivent être conductrices. Pour cela, les lames sont vaporisées d'une fine couche uniforme de carbone dans un évaporateur dédié, on parle de métallisation de la surface.

L'évaporateur présent à l'institut des Sciences de la Terre de Paris (ISTeP, UMR 7193) est un évaporateur de carbone EDWARDS AUTO 306. Il comprend un système de pompage à vide (jusqu'à 9×10^{-5}) permettant d'atteindre un vide poussé (sous la cloche) qui permet un dépôt sans contaminant. Meilleur est le vide, meilleur est le dépôt. Le carbone est déposé en couche fine d'une dizaine de nanomètres par vaporisation d'un crayon de graphite pur. Une fois la métallisation des lames effectuée, les analyses au MEB et à la microsonde électronique peuvent être réalisées.



Figure 26: Evaporateur de carbone et métallisation de surface des lames

B. La microscopie électronique à balayage

Le Microscope électronique à balayage est l'un des outils les plus puissants. L'utilisation des électrons permet d'atteindre des grossissements, une résolution et une profondeur de champ importants.

Le MEB de l'institut des Sciences de la Terre de Paris est un MEB ZEISS Supra 55 VP à canon « schottky » (cathode chaude à effet de champ), à pression variable: le vide dans la chambre peut varier de 133 Pa à 10^{-5} Pa avec une résolution pouvant atteindre 1nm. Il est équipé d'un système d'analyse EDS PGT, avec un détecteur de rayon X qui permet une analyse qualitative et quantitative des éléments chimique à partir du carbone.

Dans le cadre de cette étude, les échantillons dentaires ont été étudiés à partir des images reconstruites par l'analyse des électrons secondaires (signal SE2) et rétrodiffusés (signal AsB), permettant ainsi d'apprécier l'état de surface des différentes structures. Les échantillons sont bombardés par un faisceau électronique avec une énergie de 15 Kv et un courant de 7 nA.



Figure 27: Microscope électronique à balayage

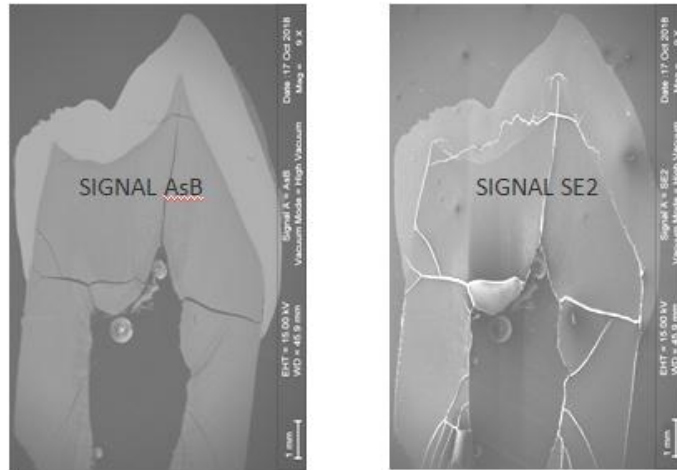


Figure 28: Image reconstruite par signal AsB (Contraste chimique) et SE2 (relief)

C. La microanalyse par sonde électronique

L'analyse d'un échantillon par microsonde électronique permet :

- une analyse qualitative, pour la détermination des éléments présents dans la cible ;
- une analyse quantitative, pour connaître localement la composition pondérale de la cible.

Elle s'appuie pour cela sur la mesure de l'intensité du rayonnement X caractéristique émis par un élément donné, dans des conditions particulières d'excitation.

Celle utilisée pour l'étude est un modèle SX Five de chez CAMARECA.



Figure 29: Photographie de la microsonde électronique SXFive

Dans le cadre de notre étude, deux lignes de spots de microanalyse X ont été tracées sur l'échantillon (d'une longueur de 1mm, constituées de 40 points espacés de 25 μ m):

- la première (1) au niveau coronaire (à proximité de la jonction amelo cémentaire), elle est placée de manière à ce qu'il y ait 20 points dans l'émail et 20 points dans la dentine ;
- la seconde (2) au niveau radiculaire, à 1mm en dessous de la jonction amelo cémentaire.

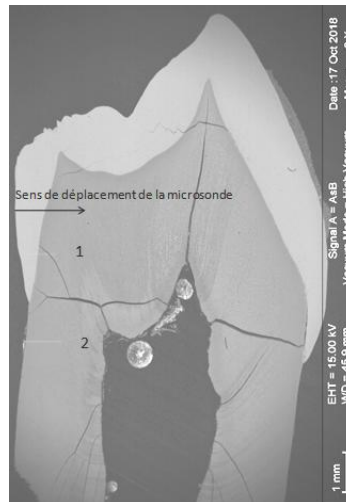


Figure 30: Schéma du paramétrage de la microsonde sur un échantillon témoin

Le spectromètre WDS est calibré pour détecter des éléments chimiques majeurs (Ca et P) avec un faisceau incident de 20 kV et 10 nA, et des éléments mineurs (Na, Mg, Cl ...) avec un faisceau incident de 150 nA.

Les résultats obtenus seront présentés en pourcentage massique (% wt)

Les échantillons seront observés dans un premier temps de façon macroscopique, puis dans un second temps par analyse au MEB et dans un troisième temps par analyse à la microsonde.

3.3. Résultats

3.3.1. Observation macroscopique

Après immersion pendant 1 an en eau saline, les tubes sont remplis et recouverts de vase et d'algues. Après élimination de ces derniers, on peut observer que l'aspect de la couronne (l'émail) semble non altéré. A contrario les racines ont un changement de couleur, elles ne sont plus translucides mais plutôt opaque, grisâtre et poreuse (en plus de la présence de trace

de rouille, dû au fil galvanisé (dont les propriétés est de se protéger de la corrosion) maintenant les tubes entre eux lors de l'immersion.

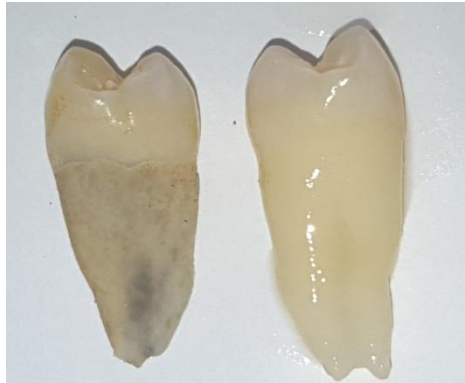


Figure 31: Vue externe de l'échantillon P11 /1 (à gauche) et P11/0 (à droite) avant découpe



Figure 32: Vue externe et interne des échantillons P6 et P8 (à T0 et T1) après découpe en hémi-dent

Les échantillons à T0 sont nommés P2/0, P5/0, P8/0, P9/0, P11/0, P12/0.

Les échantillons à T1 sont nommés P2/1, P5/1, P8/1, P9/1, P11/1, P12/1.

3.3.2. Microscopie électronique à balayage

Nous avons effectué dans un premier temps, l'analyse au MEB des 12 lames (6 échantillons à T0 et 6 échantillons à T1). Dans un second temps, nous avons observé les échantillons sous forme d'hémi dent. Et enfin, nous avons visualisé et analysé la composition de la vase.

Les résultats sont semblables et cohérents d'un échantillon à l'autre au sien du groupe d'échantillons témoins et du groupe d'échantillons immergés. Les différences relevées entre les échantillons témoins et échantillons immergés sont décrites ci-dessous.

1. Email

L'aspect de l'émail sur les clichés au MEB, est quasi semblable entre les échantillons T0 et T1. Au niveau occlusal, l'émail présente un aspect assez lisse (avec parfois des déminéralisations superficielles à T0 et T1). Sur certains échantillons immergés nous avons la présence de fêlures et fractures d'émail (émail cervical) qui peuvent être dues à une fragilisation des structures lors de la préparation des échantillons (ou de l'effet de la pression de l'eau en profondeur). Nous avons aussi pu remarquer la présence de fracture à la jonction amélo-dentinaire aux seins des échantillons témoins ou immergés sur la totalité des échantillons.

Sur certaines surfaces, nous avons remarqué la présence de tartre et de dépôt sédimentaire contenant des diatomées et des coccolithes.

- Héli-dent

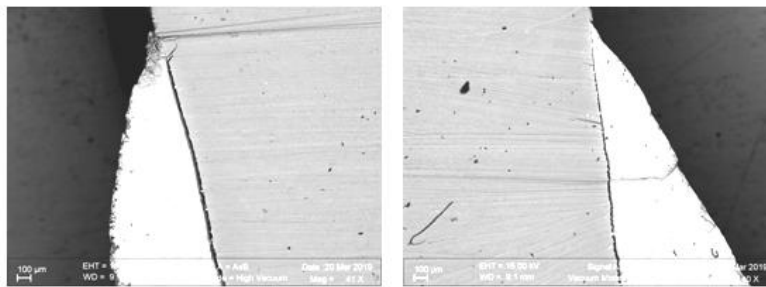


Figure 33: Email échantillon P5/0 (face vestibulaire et palatine)

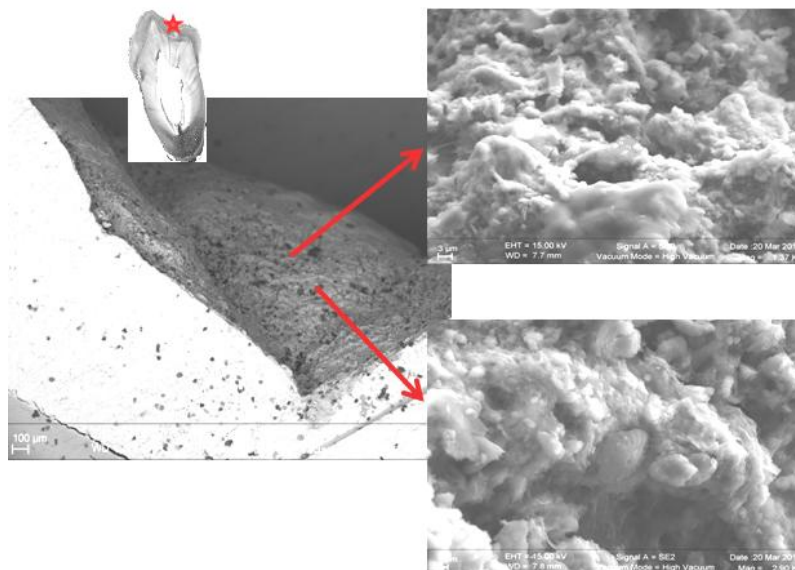


Figure 34: Echantillon P5/1 avec dépôts à la surface de l'émail de sédiment contenant des diatomées et des coccolithes

- Lames

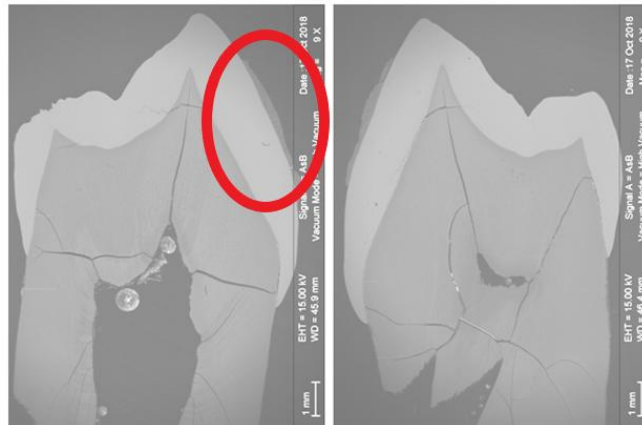


Figure 35: Echantillons P2/0 (à gauche) et P2/1 (à droite): émail avec un aspect lisse et présence d'un dépôt sur l'émail en vestibulaire

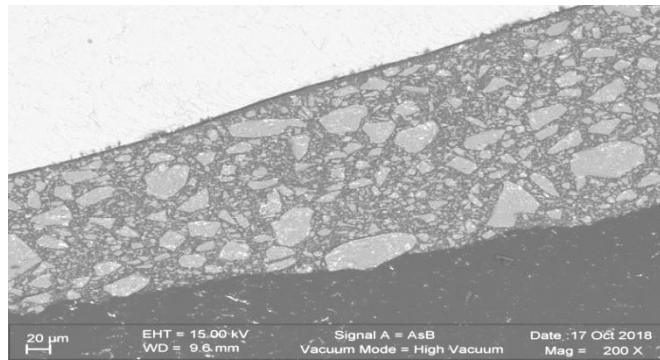


Figure 36: Aspect du dépôt sur l'émail échantillon P2/0

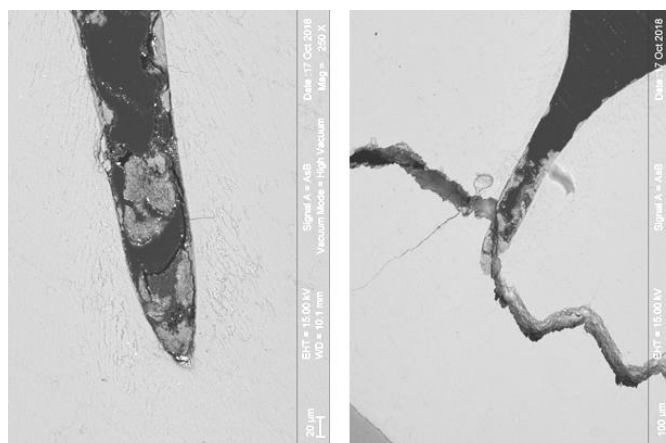


Figure 37: Vue sillon occlusal des échantillons P11/0 (à gauche) et P11/1 (à droite)

2. Dentine

Les échantillons à T0, sont recouverts à leur surface dentinaire d'un voile organique plus ou moins adhérent à la structure dentinaire. Les échantillons présentent des contours bien uniformes et continus.

Les échantillons à T1, présentent des contours moins bien limités et continus que les échantillons à T0.

En effet on peut observer:

- sur les héli-dents : une absence de voile organique avec un tissu minéral craquelé et déminéralisé sur tout le long des racines mais avec une prédominance au niveau de la jonction amélo-cementaire. A plus fort grossissement on distingue la présence d' « inclusion de carbonate de calcium » au sein des cavités dentinaire formées par l'activité de cyanobacteries. (qui sera développé plus loin dans la discussion).

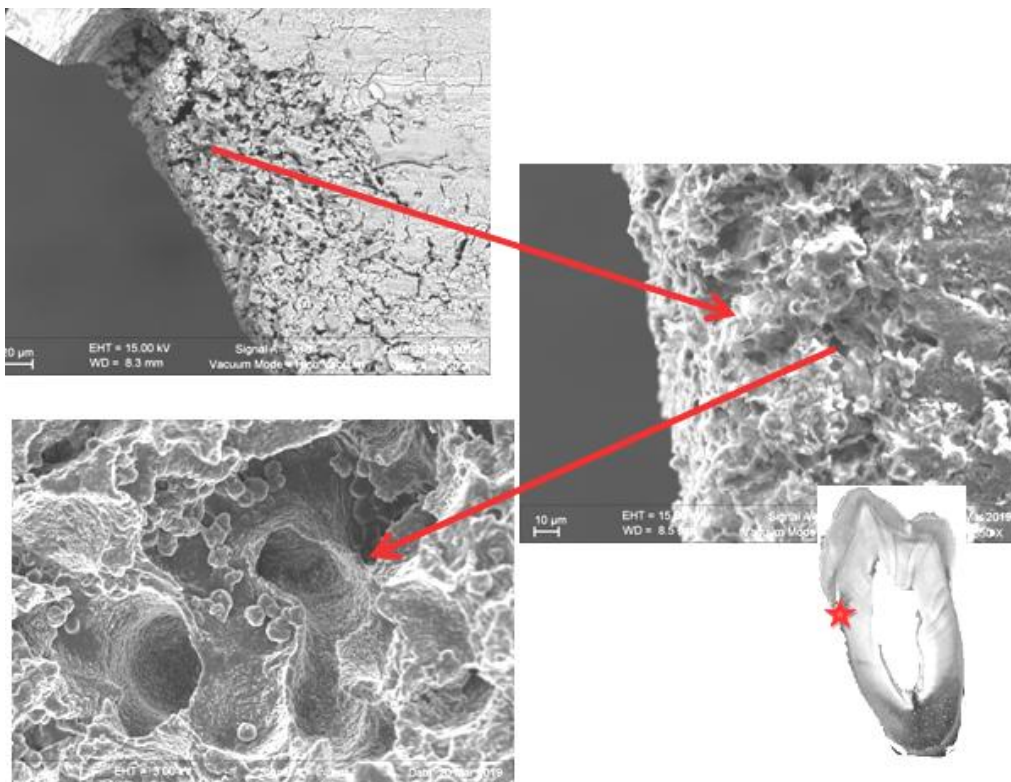


Figure 38: Image MEB de l'échantillon P2/1 avec présence de d'inclusion de carbonate de calcium

Sur l'échantillon P12/1, il a été observé au sein des cavités dentinaire, des éléments organiques épousant les micro-perforations.

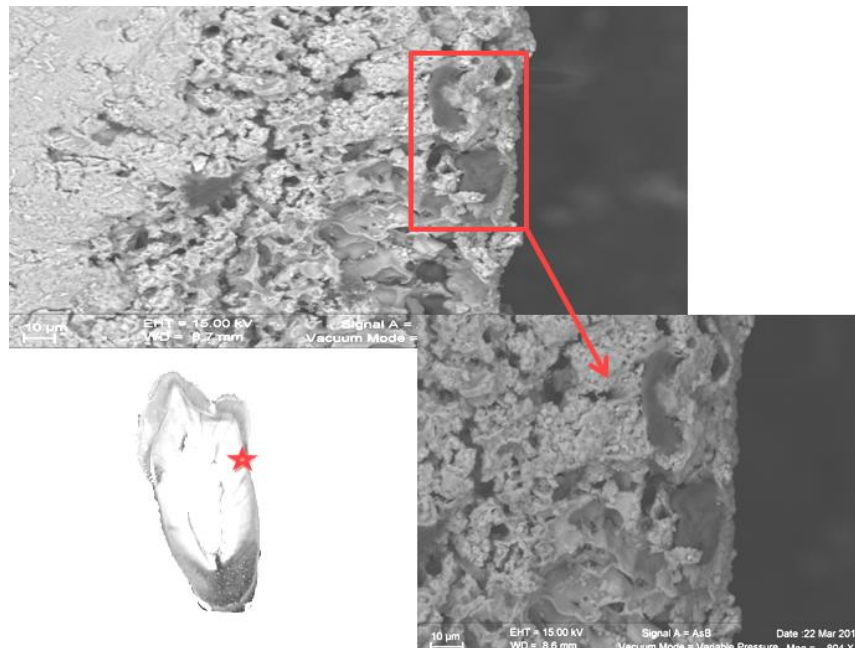


Figure 39: Image MEB d'éléments organiques épousant les micro-perforations

- sur les lames : On peut observer que la partie dentinaire est attaquée par des micro-organismes qui forment des micro-perforations dans la dentine, perpendiculairement à l'orientation des tubuli dentinaires. Ce phénomène a déjà été observé par plusieurs auteurs (Turner-Walker 2008). En effet il l'a été observé à 6mois d'immersion dans l'eau de mer au port du Havre (Boudy 2018). Cette tunnelisation de la dentine s'étend entre 100 µm et 750 µm. Les tunnels ont un diamètre de 3 à 10 µm.

NB : Les images radio opaque sur les clichés correspondent à des particules d'oxyde de cérium, utilisé pour polir les lames et n'ayant pas pu être enlevé par les ultrasons lors du nettoyage.

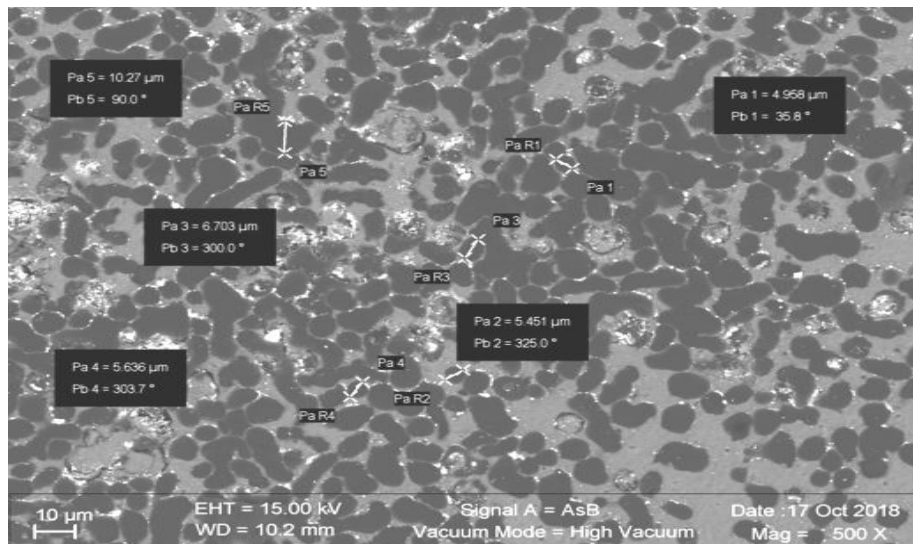
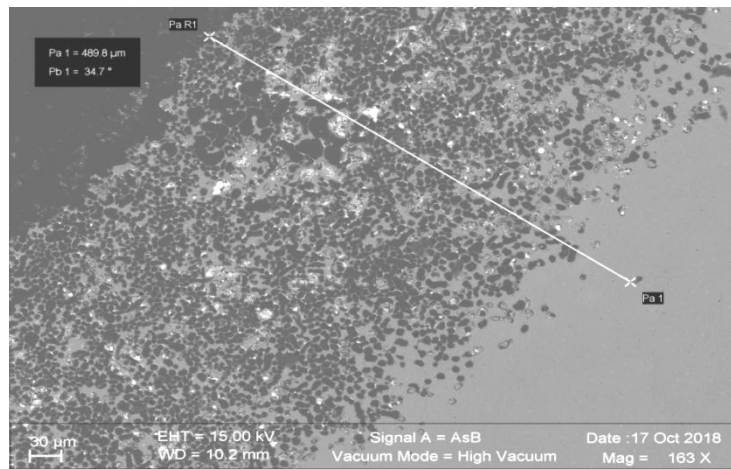
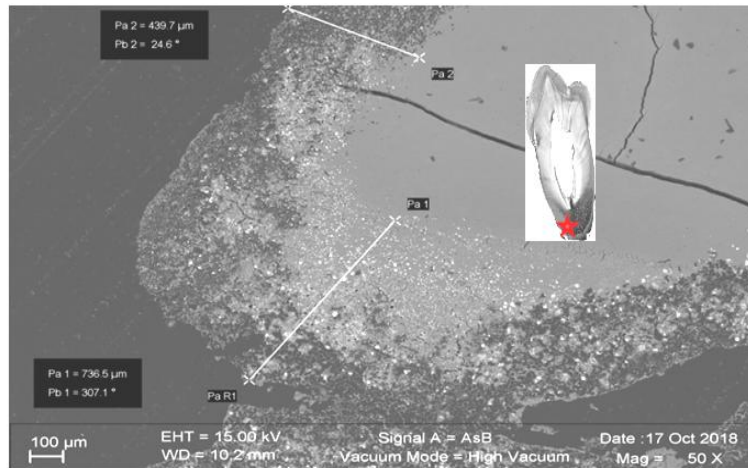


Figure 40: images MEB à différents grossissements de la lame P12/1 – Tunnelisation de la dentine radicaire par les bactéries

- Éléments particuliers observés sur les échantillons T1 et la vase :

➤ **Diatomées**

Les Diatomées ou Bacillariophycées sont des algues microscopiques unicellulaires caractérisées par une enveloppe siliceuse externe à structure très particulière, le *frustule*.

Les Diatomées peuvent se développer partout où elles trouvent un minimum de lumière et d'humidité: eaux douces, saumâtres et marines, mais aussi dans le sol et en milieu aérien. Bien qu'elles tolèrent généralement d'importantes variations thermiques, ce sont plutôt des organismes d'eau froide: les océans Arctique et Antarctique ont une flore diatomique particulièrement riche. Elles ont besoin de lumière car ce sont des organismes photosynthétiques. Cependant, elles peuvent parfois s'en passer en utilisant des sources organiques de carbone, adoptant ainsi, de façon provisoire ou définitive, un mode de vie saprophytique (Encyclopedie universelle).

Les diatomées ont généralement un diamètre ou une longueur compris entre 20 et 200 microns, bien qu'elles puissent parfois atteindre 2 millimètres de long. Elles peuvent se présenter en cellules isolées ou regroupées en colonies. Leur paroi finement ornementée (pores, excroissances, épines, etc.) est divisée en deux valves emboîtées de taille différente: l'hypothèque, la plus petite des deux valves, vient s'emboîter dans l'épithèque (à la façon d'une boîte de Pétri). La bordure verticale de l'épithèque, appelé l'épicingulum, recouvre et cache le bord de l'hypothèque.

On distingue deux grandes catégories de Diatomées selon la géométrie de leur frustule:

- les Diatomées centrales, à symétrie radiale: le frustule circulaire porte des stries, rayonnant depuis un point ou une aréole (qui n'est pas forcément situé au centre de la valve), ou une réticulation ;
- les Diatomées pennales, à symétrie bilatérale : le frustule allongé présente des stries disposées autour d'un plan de symétrie bilatérale. De nombreuses Diatomées Pennales présente sur ce plan de symétrie une fente, le raphé, interrompue par un nodule de silice central. Elle permet une communication avec le milieu extérieur et l'excrétion de mucilage. Si cette fente est atrophiée ou peu marquée, on parle de pseudo-raphé. Les Pennales sans raphé sont appelées Diatomées araphidées ou crypto-raphidées (Langlois 2006).

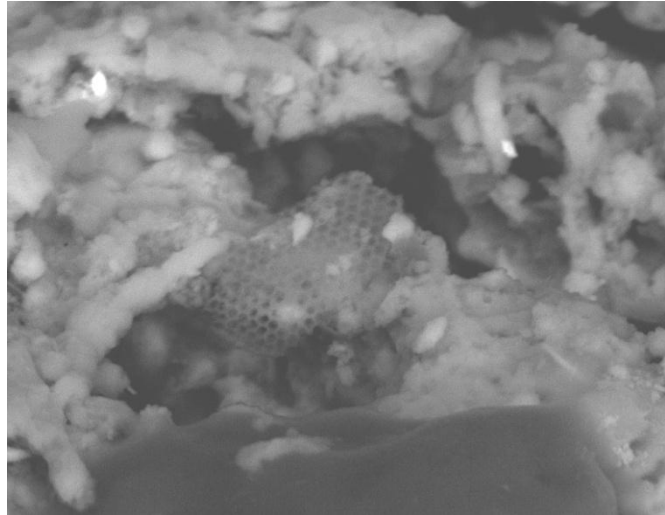
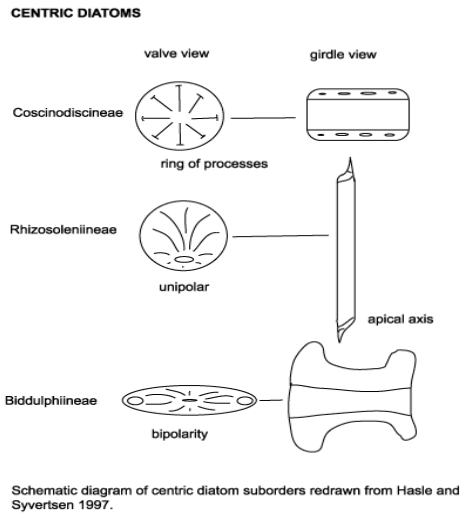


Figure 41: Schéma (Hasle et Syvertsen 1997) et image MEB d'une diatomée central

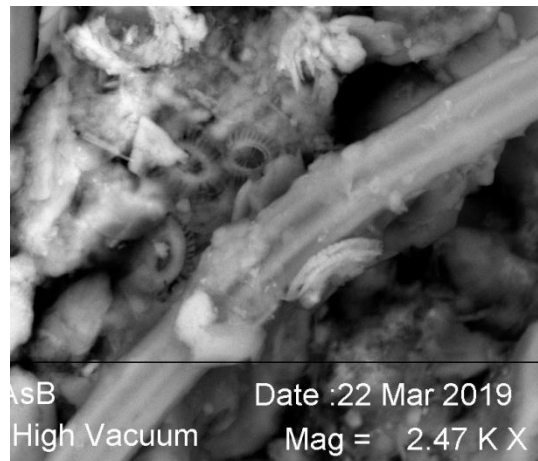
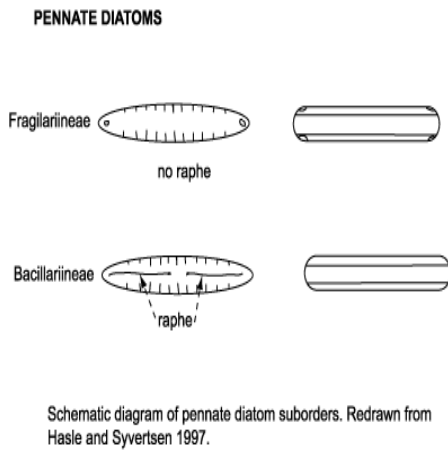


Figure 42: Schéma (Hasle et Syvertsen 1997) et image MEB d'une diatomée pennale.

➤ **Coccolithes**

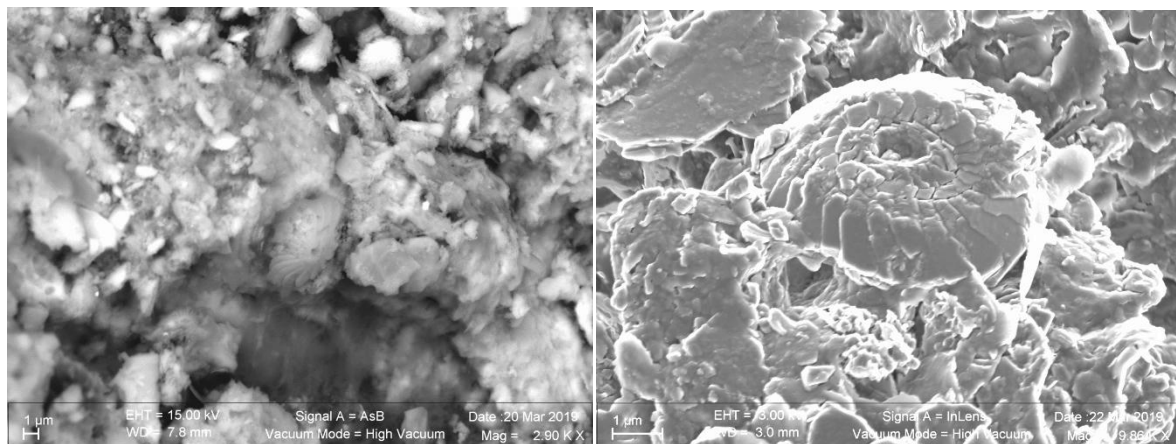
Les coccolithes (coccolithophoridés) sont des algues unicellulaires exclusivement marines. Ces microalgues aux formes variées font partie du nanoplancton, c'est-à-dire que leur taille est comprise entre 5 et 50 microns. Elles sont visibles au microscope et comptent plusieurs centaines d'espèces répertoriées.

Les coccolithes se caractérisent par leur squelette externe. Tout comme les diatomées captent de la silice dans l'eau pour construire leur carapace, les coccolithes y puisent du carbonate de calcium pour fabriquer leur enveloppe calcaire.

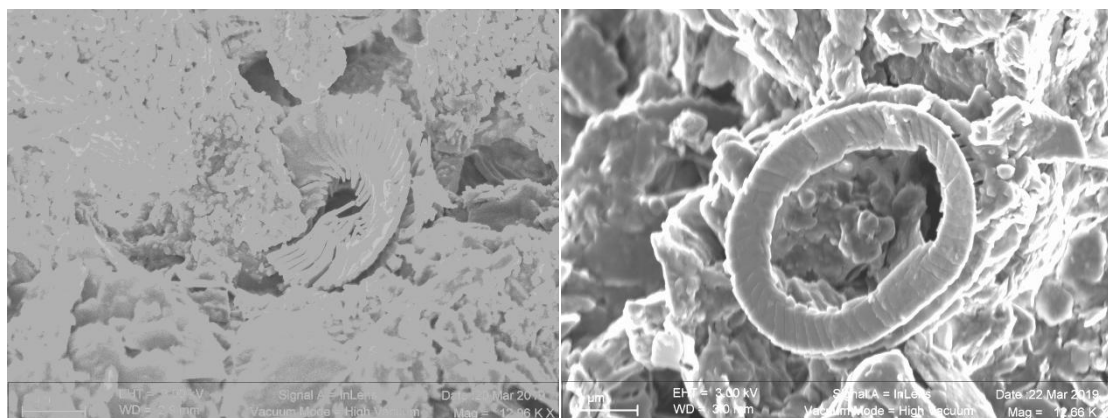
Lorsque la microalgue meurt, les squelettes tombent rapidement au fond de l'eau et, une dizaine de jours après, s'entassent sur le plancher océanique. Leur accumulation donne naissance à des boues qui sédimentent au fil des millions d'années et va aboutir à la formation d'une roche sédimentaire: la craie.

Il existe deux formes de coccolithes:

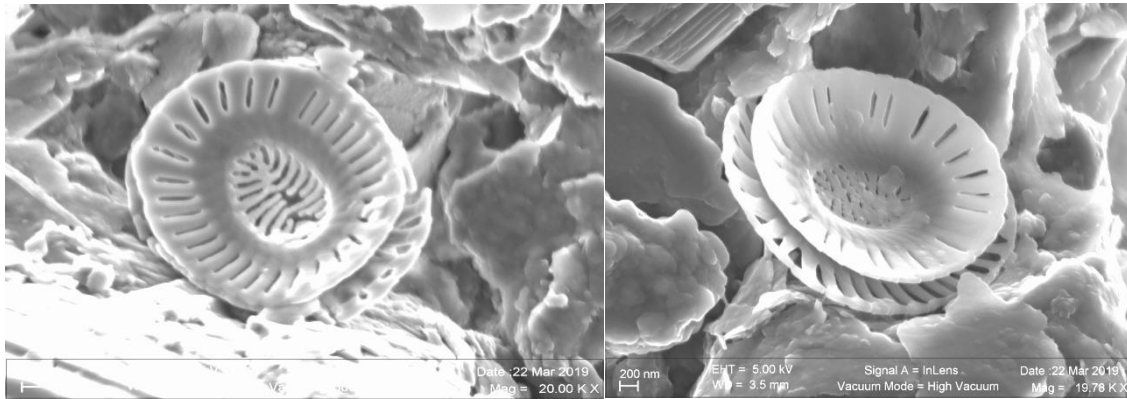
- les holococcolithes formés de cristaux de calcite essentiellement identiques en forme et en taille ;
- les hétérococcolithes formés de cristaux plus gros de calcite de taille et de forme différentes.



Coccolithes de type *Calcidiscus leptoporus*



Coccolithe de la famille des *watznaueria* (à droite)



Coccolithes de la famille des *Emiliana huxleyi*

Figure 43: Images MEB de coccolithes observés dans nos échantillons

➤ Foraminifères

Les foraminifères se trouvent dans tous les environnements marins. Ils peuvent être de type planctonique ou benthique.

Ce sont:

- des testâtes : « qui possèdent une coquille » présentant une ou plusieurs loges et muni d'un ou plusieurs foramens. Elle correspond à une membrane protectrice très résistante en calcaire qu'ils élaborent à partir d'éléments chimiques présent dans l'eau de mer, en particulier l'oxygène ;
- des protozoaires (organismes unicellulaires caractérisés par l'absence de tissus et d'organes) ;
- qui possèdent des pseudopodes (extensions filiformes de l'ectoplasme).

Leur taille varie généralement de 38 μm à 1 mm (mais certains peuvent faire plus de 10 cm)

Les Foraminifères actuels se nourrissent de Diatomées et d'autres algues unicellulaires.

Ils adoptent plusieurs formes variables:

- uniloculaire ;
- multiloculaire rectiligne (unisérié ou bisérié) ;
- multiloculaire enroulé planispiralé;
- trochospiralé

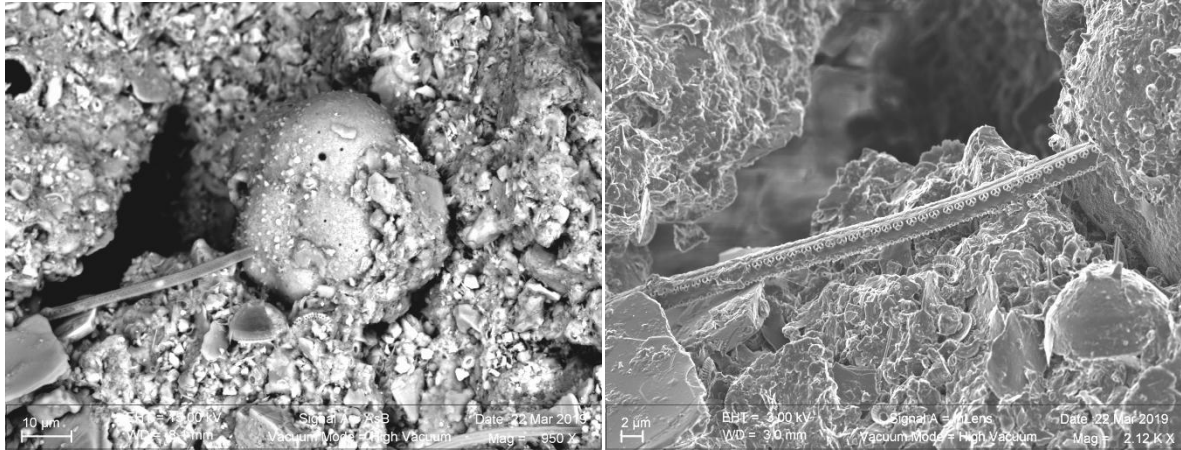


Figure 44: image au MEB de foraminifère

Analyse de la vase par MEB

Suite à l'entrée de la vase par les courants marins au sein des tubes troués, nous avons pu récupérer la vase pour une analyse par MEB. Après le séchage de la vase, cette dernière a été déposée sur un plot pour pouvoir être analysé par MEB.

Nous avons réalisé des clichés MEB des différents éléments retrouvés et une analyse de la composition chimique de ces éléments.



Figure 45: Photo de la vase à l'état naturelle (à gauche) et vase préparée pour l'analyse au MEB (à droite)

- Image en MEB

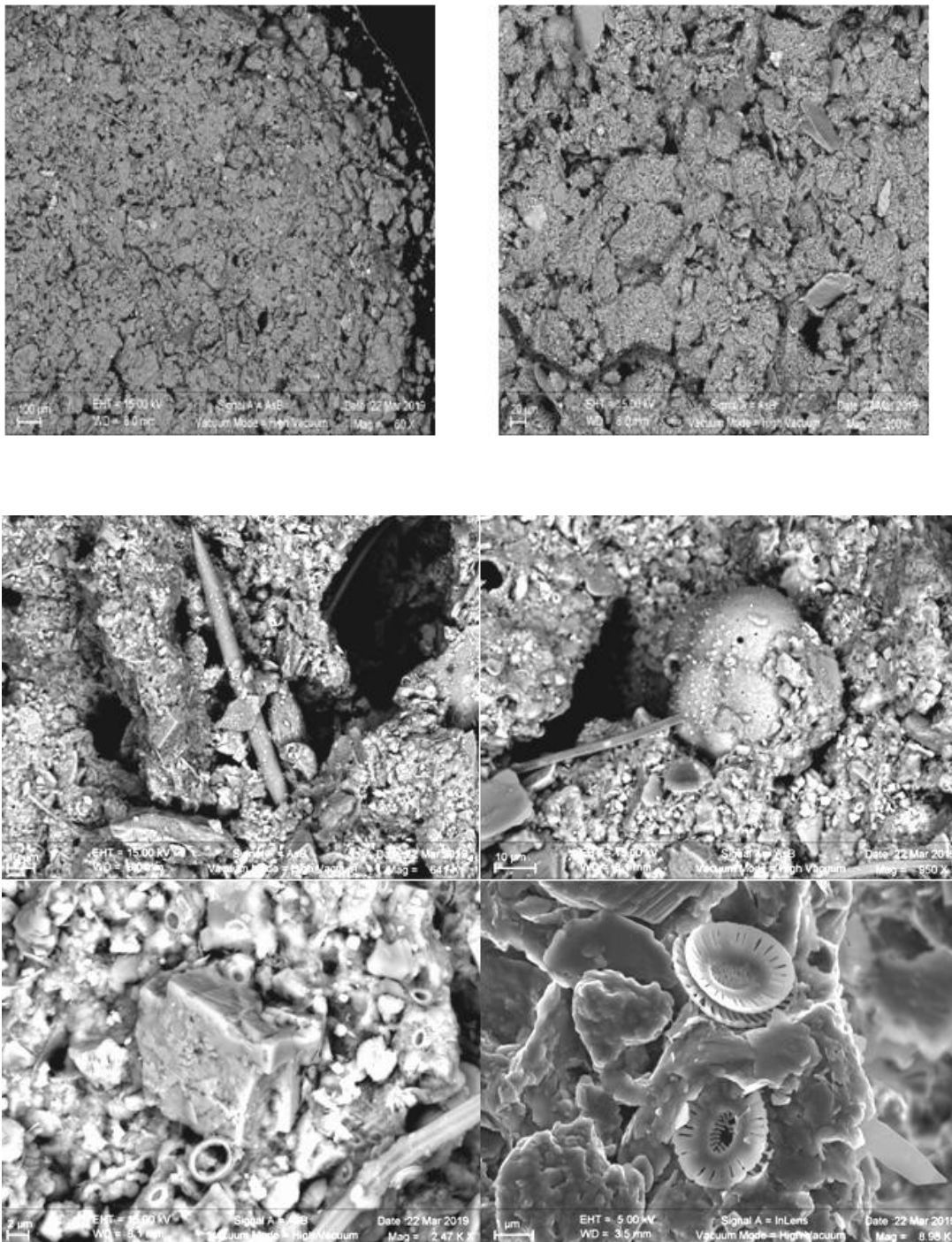


Figure 46: éléments observés au MEB dans la vase

Nous avons pu visualiser:

- Spicules d'éponge de type « pleaster » (Figure en haut à gauche) ;
- Foraminifères (Figure en haut à droite) ;
- Calcites (Figure en bas à gauche) ;

- Diatomées (Figure en bas à droite) ;
- Coccolithes ;
- Traces d'oxyde de Fer.

3.3.3. Microanalyse par microsonde électronique

Les 6 échantillons ont été analysés ; par microsonde électronique ; afin de quantifier les éléments P, Ca, Na, Cl, Mg, Si, Sr, Fe et O sur les lignes de spots coronaire (émail+dentine) et radiculaire (dentine).

Les données recueillies sont exprimées en % massique (% wt) de l'élément chimique étudié.

Pour présenter nos résultats, deux types de graphique ont été réalisés:

- Graphique en nuage de point : le pourcentage massique en ordonné et les différents spots en abscisse.
- Graphique en box-plot ou boîte de Tukey, permettant de représenter schématiquement la distribution d'une variable.

La boîte de Tukey utilise 5 valeurs qui résument des données :

- le minimum : extrémité inférieure des moustaches. $\text{Min} = Q1 - 1,5 (Q3 - Q1)$
- les 3 quartiles Q1, Q2 (médiane), Q3,
- le maximum : extrémité supérieure des moustaches. $\text{Max} = Q3 + 1,5 (Q3 - Q1)$

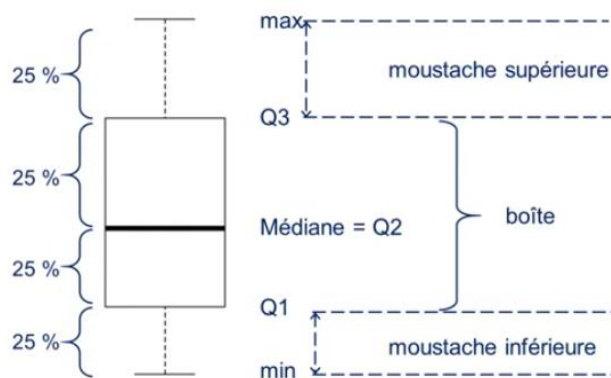


Figure 47: Boîte de Tukey

- la valeur du 1er quartile Q1 (25 % des effectifs), correspondant au trait inférieur de la boîte ;

- la valeur du 2ème quartile Q2 (50 % des effectifs), représentée par un trait horizontal à l'intérieur de la boîte ;
- la valeur du 3ème quartile Q3 (75 % des effectifs), correspondant au trait supérieur de la boîte ;
- les valeurs dites extrêmes, atypiques, exceptionnelles, (outliers) situées au-delà des moustaches sont représentées par des points sont considérées comme des valeurs aberrantes.

L'étendue d'une série statistique est égale à la différence entre la plus grande et la plus petite des données de la série.

L'écart interquartile est égal à la différence $Q3 - Q1$

Le test non paramétrique de Wilcoxon-Mann-Whitney, du fait d'un échantillon de petite taille, a été utilisé dans cette étude afin de comparer les échantillons T0 et T1. Il est conçu pour tester une hypothèse sur la position de médiane d'une distribution d'une population. Il teste l'hypothèse nulle H_0 selon laquelle il y a égalité des médianes des différentes populations d'échantillons étudiés. En pratique, il permet de déterminer s'il existe une différence significative entre les populations d'échantillons.

Le p-value (p) indique la probabilité de rejeter l'hypothèse nulle. Si $p > 0,05$, alors l'hypothèse nulle H_0 ne peut pas être rejetée, au risque α de 5%. Cela signifie qu'il n'y a pas de différence significative entre les 2 populations étudiées.

Dans un premier temps, nous avons vérifié l'homogénéité de la composition chimique élémentaire des échantillons témoin (T0). Dans un second temps, nous avons comparé la composition chimique des échantillons témoins à celle des échantillons immergés 1 an, afin d'observer si il existe une différence significatives entre les 2 groupes.

1) Comparaison des échantillons T0 entre eux

N.B.: L'échantillon 12 présente aux images MEB plusieurs fractures dues à la préparation des lames, de plus on peut observer sur les images qu'il existe des lacunes au niveau de l'émail et que les spots au niveau de la dentine radiculaire ne débutent pas forcément à la surface de la racine. De ce fait les résultats de l'échantillon 12 sont dus aux positionnements différents des spots par rapport aux autres échantillons dus à la découpe des lames.

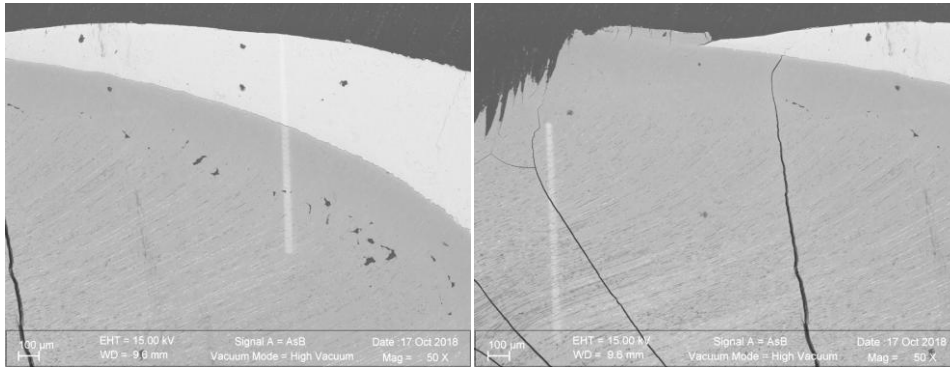
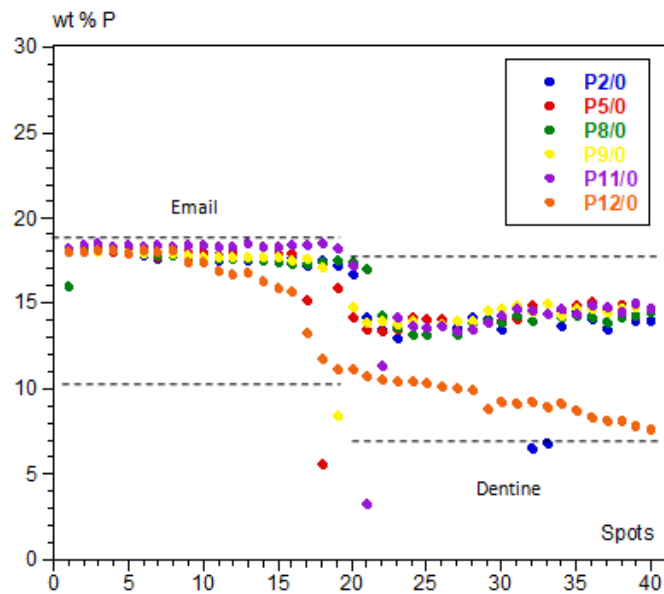


Figure 48: Image MEB de l'échantillon 12, observation de la localisation des spots par analyse à la microsonde au niveau de l'émail (à gauche) et de la dentine radriculaire (à droite).

➤ Au niveau coronaire

L'émail correspond aux spots de 1 à 20 et la dentine coronaire des spots 21 à 40. Comme indiqué sur le nuage de points du poids massique de l'élément phosphore en fonction des spots de la microsonde.



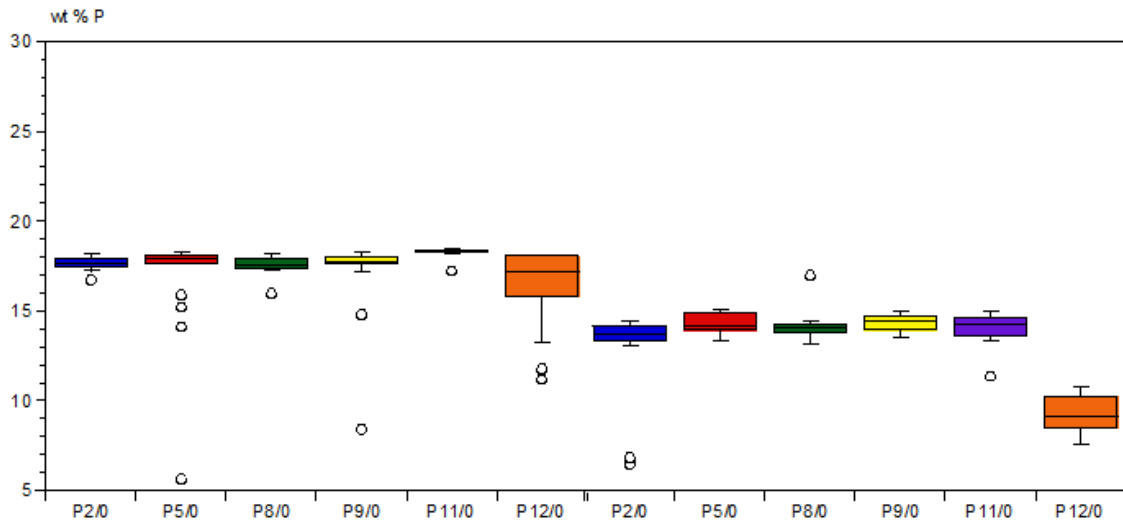


Figure 49: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément phosphore (P) dans la couronne des 6 échantillons.

Concernant la composition en phosphore, nous observons une certaine homogénéité entre les échantillons témoins P2, P5, P8, P9 et P11 dont leur % massique est compris entre 14,18 et 18,18 au niveau de l'émail, et entre 13,03 et 15,07 dans la dentine coronaire. Ces valeurs sont comparables à celles de la littérature (Arnold et Gaengler 2007a; Zenobio et al. 2010) et légèrement au dessus par rapport à d'autres auteurs (Liu et al. 2013).

L'échantillon P12 se dissocie du reste des échantillons à partir du 11^{ième} spot avec une différence plus marquée au niveau de la dentine coronaire. Le pourcentage massique du phosphore passe de 16,90 (11^{ième} spot) à 11,21 dans l'émail et de 10,82 à 7,64 dans la dentine coronaire. Soit près de 50% de différence entre le %massique entre l'échantillon P12 et le reste des échantillons au niveau du dernier spot (spot 40) de la dentinaire coronaire.

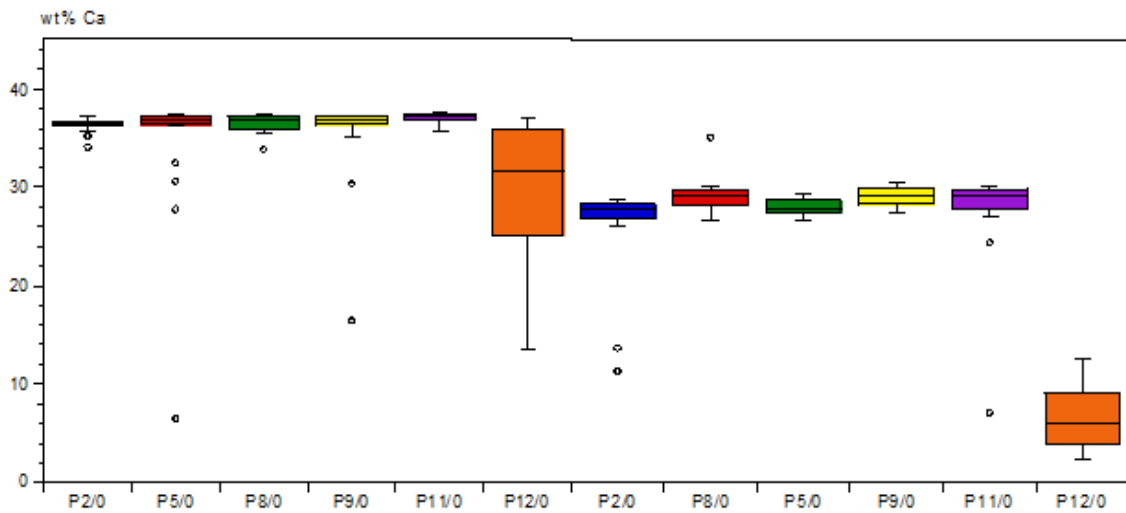
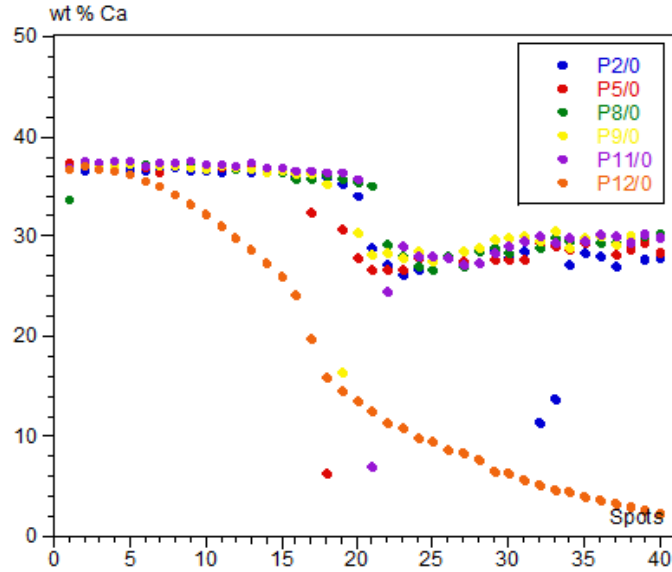
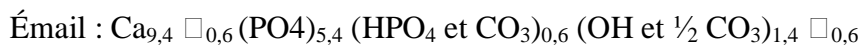


Figure 50: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément calcium (Ca) dans la couronne des 6 échantillons.

Pour ce qui est de la composition en calcium, les échantillons P2, P5, P8, P9, P11 présentent des valeurs comprise entre 36,31 et 37,52 dans l'émail et entre 24,44 et 30,60 dans la dentine. Ces échantillons présentent une homogénéité des valeurs au niveau de l'émail dont les valeurs se situent en dessous des valeurs trouvées par certains auteurs (Arnold et Gaengler 2007) et au dessus par rapport à d'autres auteurs (Liu et al. 2013) et en accord avec certain (Zenobio et al. 2010). Concernant la dentine, on observe une plus grande variabilité qui peut être expliquée par la formule brute moyenne de l'hydroxyapatite biologique de l'émail et de la dentine (Legros et al. 1987) :



Les lacunes, notées □, et les substitutions possibles sont plus importantes dans la dentine que dans l'émail, ce qui favorise la variabilité de sa composition (Cazalbou et al. 2004; Garcia 2012).

L'échantillon P12 présente une chute libre à partir du 6^{ème} spot passant de 35,56 à 13,60 au niveau de l'émail et de 12,51 à 2,39 au niveau de la dentine. On observe bien cette différence par rapport aux autres échantillons grâce au graphique en box. En effet, on observe une plus grande variabilité des valeurs au sein de l'échantillon P12 (plus importante dans l'émail) qui présente une hauteur de boîte plus importante que les autres échantillons. De plus sa médiane est bien plus basse que le reste des échantillons (différence plus marquante au niveau de la dentine coronaire).

Les différences de valeurs comparées à la littérature peuvent s'expliquer de plusieurs façons:

- des processus de déminéralisation et de reminéralisation permanents ont lieu uniquement à la surface de l'émail en raison de l'exposition de l'émail à l'environnement oral (Gängler 2005). La situation est complètement différente dans la dentine où les odontoblastes, situés dans la pulpe adjacente à la dentine, produisent constamment de la dentine pendant toute la durée de vie d'une dent (Arnold et Gaengler 2007a). Par conséquent, la composition minérale de la dentine peut être différente dans la dentine circumpulpaire et dans la dentine nouvellement formée adjacente à la pulpe ;
- selon une étude le processus de déminéralisation prévaut sur le processus de reminéralisation, la déminéralisation entraîne un taux plus important des éléments minéraux (Kunin et al. 2015) ;
- cette même étude a montré que la présence de plaque ou de carie entraînaient des modifications dans la composition de l'émail en phosphate et calcium.

Table 3 Microelement composition of intact enamel and enamel covered with dental plaque

Microelement composition	Intact enamel	Enamel covered with dental plaque
Ca	37.45 ± 1.4%	26.01 ± 2.78%
F	0.98 ± 0.02%	0.72 ± 0.12%
P	17.08 ± 1.23%	12.18 ± 1.48%
Mg	0.74 ± 0.01%	1.7 ± 0.70%
Inorganic substances	95.46 ± 1.2%	51.23 ± 1.56%
Organic substances	3.56 ± 1.02%	48.71 ± 1.24%

Table 4 Content of microelements in the intact and carious enamel of teeth (weight %, mean ± SD)

Elements	Intact teeth enamel tubule (n = 30)	Cariou teeth enamel tubule (n = 30)
C	19.34 + -0.27	31.43 + -0.25
S	0.18 + -0.003	0.73 + -0.007
Cl	0.67 + -0.015	0.99 + -0.018
N	5.17 + -0.05	10.27 + -0.05
O	34.34 + -0.54	15.48 + -0.19
Na	0.62 + -0.03	0.5 + -0.01
P	19.02 + -0.41	14.21 + -0.25
Ca	31.97 + -0.60	25.04 + -0.31
Zn	0.17 + -0.009	0.15 + -0.001
K	-	0.41 + -0.05

Tableau 11: tableaux de la composition des éléments en présence de plaque dentaire et de caries (Kunin et al. 2015)

- Le développement des dents est un processus très complexe de biominéralisation qui dépend de la différenciation des mécanismes de contrôle génétique et des réactions cellulaires biochimiques complexes. Bien que le produit final de la biominéralisation soit toujours l'hydroxyapatite biologique, la formation de dentine et d'émail diffère considérablement (Boskey 2003) ;
- Les teneurs en Ca et P de l'émail des dents permanentes sont plus élevées que celles de l'émail des dents en développement. Cela confirme l'hypothèse d'une maturation ultérieure de l'émail après la nucléation des prismes d'émail.

Table 1. Element content in wt% (±SD) in predentin, mineralizing dentin, mature young dentin and mature young enamel of developing teeth

	C	Ca	P	Ca/P
Predentin	76.9 ± 11.7	7.8 ± 10.05	2.9 ± 2.8	2.5 ± 0.85
Mineralizing dentin	35.6 ± 20.1	30.7 ± 12.4	14.1 ± 5.1	2.1 ± 0.33
Mature dentin	21.5 ± 6.4	36.6 ± 7.2	17.3 ± 2.0	2.1 ± 0.21
Mineralizing enamel	43.7 ± 15.6	23.8 ± 10.1	11.4 ± 4.3	2.0 ± 0.18
Mature enamel	18.2 ± 5.9	33.9 ± 6.9	16.7 ± 2.3	2.0 ± 0.15

Table 2. Element content in wt% (±SD) in predentin, mineralizing dentin, mature dentin and enamel of permanent teeth

	C	Ca	P	Ca/P
Predentin	81.3 ± 8.3	4.4 ± 6.7	1.5 ± 1.8	2.5 ± 0.7
Mineralizing dentin	48.3 ± 18.2	21.5 ± 11.2	9.8 ± 4.4	2.1 ± 0.2
Mature dentin	20.4 ± 7.4	37.7 ± 5.9	17.2 ± 2.2	2.1 ± 0.2
Enamel	10.7 ± 3.2	42.7 ± 5.1	19.9 ± 1.8	2.1 ± 0.1

Figure 12: tableaux présentant les éléments en fonction des dents en développement et des dents permanente (Arnold et Gaengler 2007a).

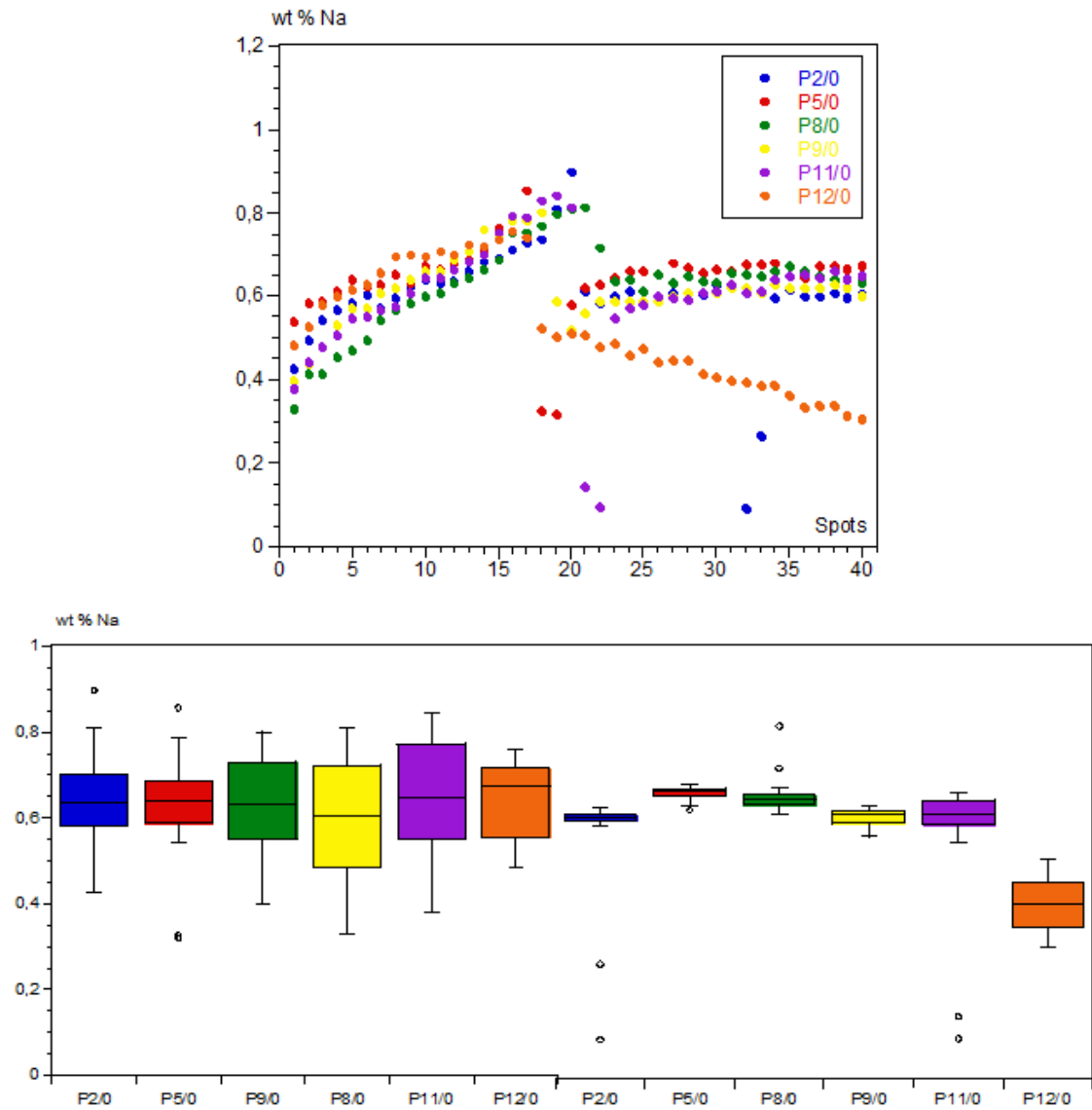


Figure 51: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément sodium (Na) dans la couronne des 6 échantillons

Au niveau de l'émail, le pourcentage massique en sodium ne cesse d'augmenter dans les 6 échantillons pour atteindre un maximum au niveau de la jonction amelo-dentinaire, avec des valeurs comprise entre 0,33 et 0,81.

Au niveau dentinaire, les échantillons sont assez homogènes (valeurs comprises entre 0,68 et 0,54) avec des valeurs croissantes, hormis l'échantillon P12 qui ne cesse de chuter à partir de la jonction amelo-dentinaire passant de 0,50 à 0,30 (valeur 50 % moins élevée que le reste des échantillons).

On observe au niveau du graphique en box, une variabilité intra-échantillonnaire au niveau de l'émail. Avec une variabilité des valeurs plus homogène au niveau de la dentine coronaire.

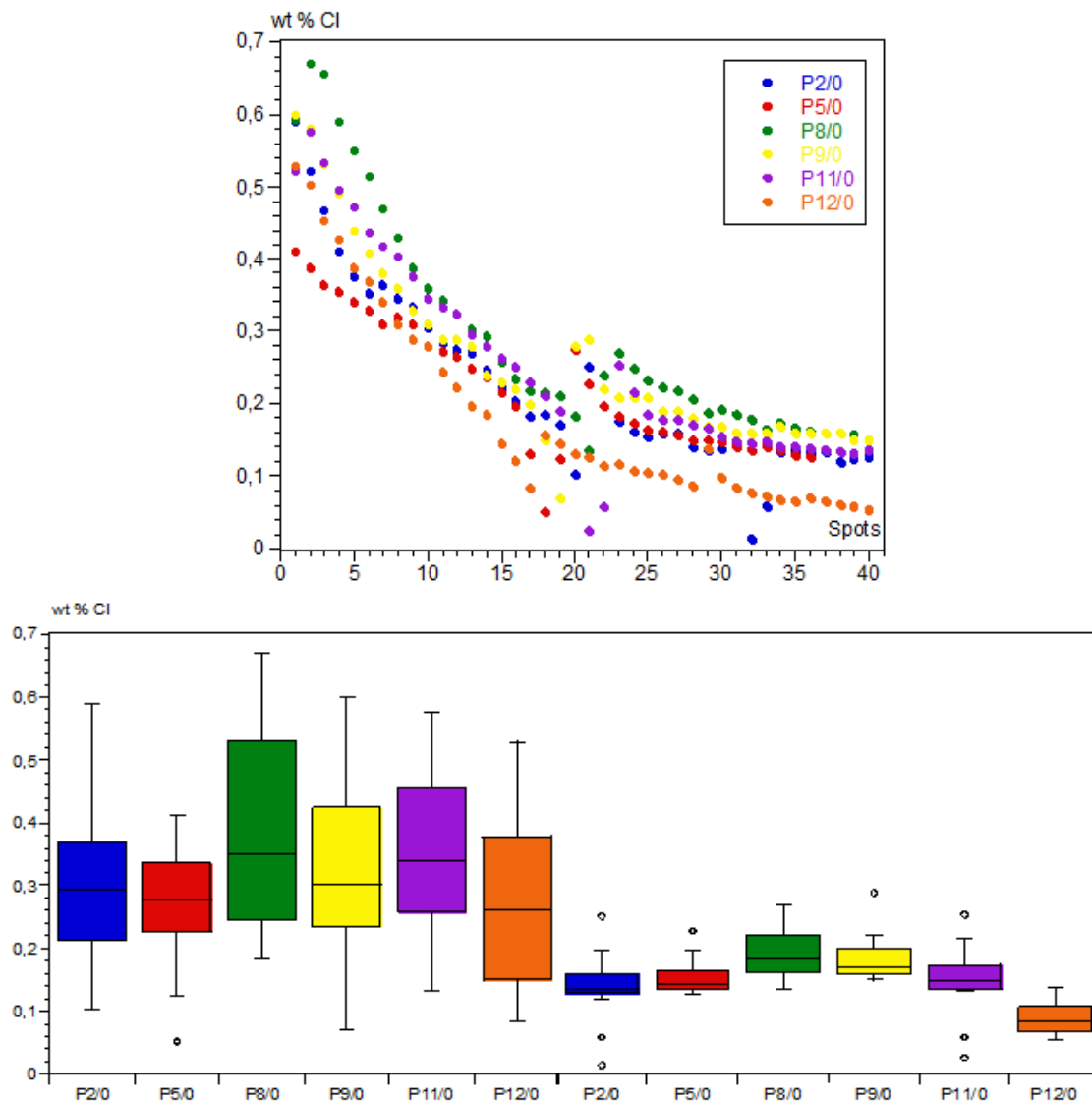


Figure 52: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément Chlore (Cl) dans la couronne des 6 échantillons

L'élément Chlore est inversement proportionnel à l'élément Sodium, sa valeur est plus importante à la surface de l'émail pour chuter et atteindre sa valeur minimale au niveau de la jonction amelo- dentinaire au niveau de l'email. Les valeurs chutent aussi au niveau de la dentine coronaire à partir de la jonction amelo-dentinaire. On observe une variabilité intra échantillonnaires assez importante au niveau de l'émail concernant tous les échantillons, et une meilleure homogénéité au niveau dentinaire.

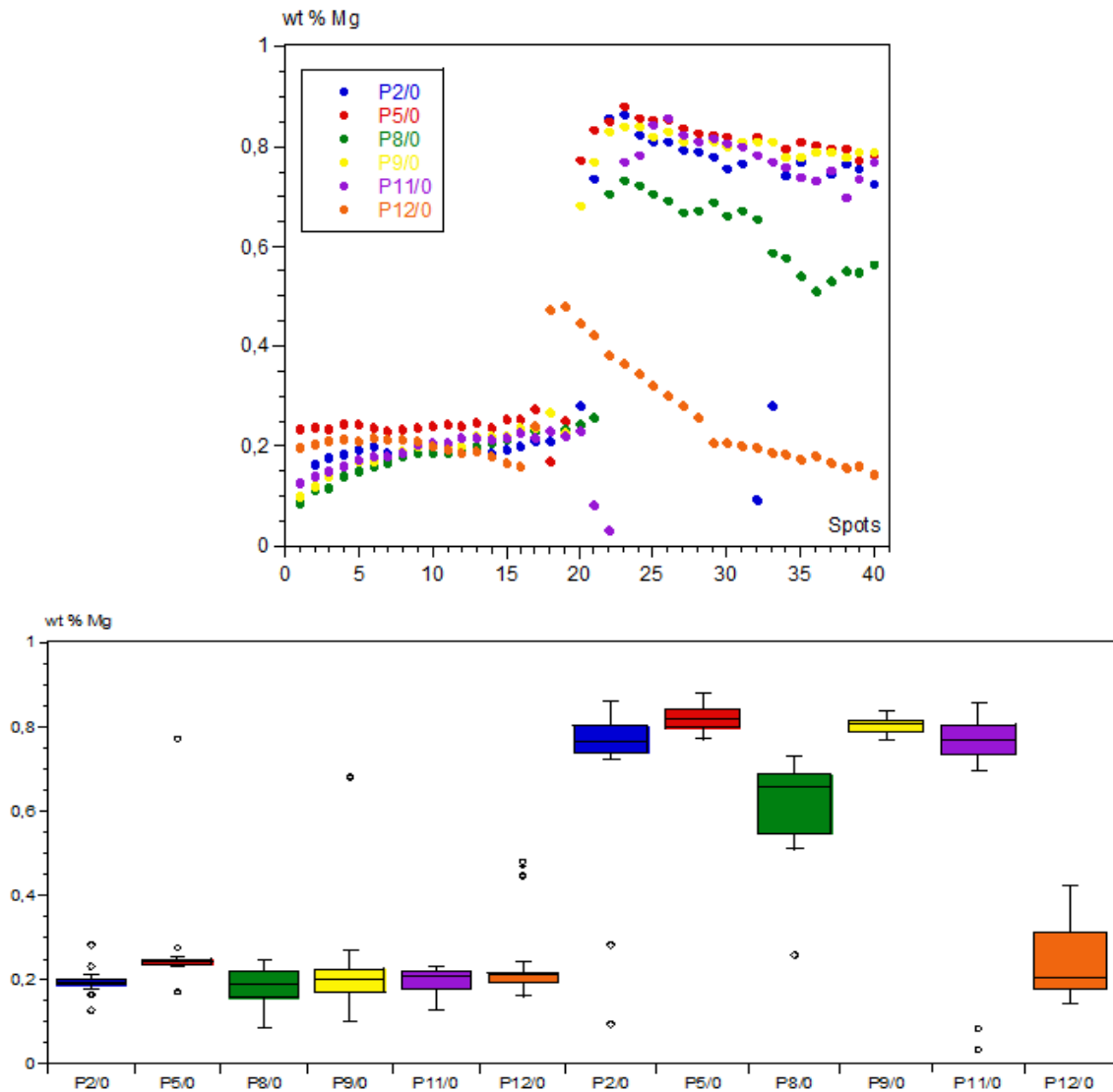


Figure 53: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément Magnésium (Mg) dans la couronne des 6 échantillons

Concernant l'élément magnésium, on observe une médiane quasi identique (autour de 0,2) pour les différents échantillons au niveau de l'email, avec une assez bonne homogénéité des valeurs et une légère tendance à l'augmentation vers la jonction amélo-dentinaire.

Au niveau de la dentine coronaire, les valeurs sont moins homogènes, avec des médianes qui fluctuent beaucoup surtout pour l'échantillon P12 comparer au reste des échantillons. On peut noter un pourcentage massique en magnésium plus important au niveau de la dentine que dans l'email.

Selon les travaux de Gutiérrez-Salazara et Reyes-Gasgaa en 2003, nous retrouvons la même tendance d'évolution des valeurs hormis l'évolution du magnésium au niveau dentinaire qui

est inversé par rapport à la littérature avec des valeurs plus importante dans notre etude (Gutiérrez-Salazar et Reyes-Gasga 2003).

Element	ENAMEL			DENTIN		
	Outer Surface	Middle	EDJ	EDJ	Middle	Inner
C	38.59 (1.60)	36.28 (0.84)	37.05 (1.51)	59.00 (4.45)	52.27 (3.16)	49.84 (0.88)
O	32.59 (0.91)	34.21 (0.67)	34.51 (0.96)	30.67 (1.87)	30.57 (2.14)	33.54 (0.51)
Na	0.24 (0.08)	0.44 (0.13)	0.66 (0.09)	0.47 (0.08)	0.42 (0.07)	0.36 (0.07)
Mg	0.16 (0.03)	0.23 (0.07)	0.22 (0.03)	0.25 (0.04)	0.34 (0.06)	0.45 (0.05)
P	10.67 (0.34)	10.86 (0.14)	10.46 (0.26)	4.41 (0.99)	6.23 (0.46)	6.32 (0.15)
Cl	0.39 (0.46)	0.25 (0.08)	0.09 (0.04)	-	-	-
Ca	17.36 (0.44)	17.74 (0.28)	16.99 (0.33)	5.19 (1.65)	9.15 (0.70)	9.50 (0.27)
Ca/P Ratio	1.63 (0.02)	1.63 (0.01)	1.62 (0.02)	1.16 (0.11)	1.47 (0.05)	1.50 (0.01)

Tableau 13: résultat étude de Gutiérrez-Salazara et Reyes-Gasga (Gutiérrez-Salazar et Reyes-Gasga 2003)

➤ Au niveau radiculaire

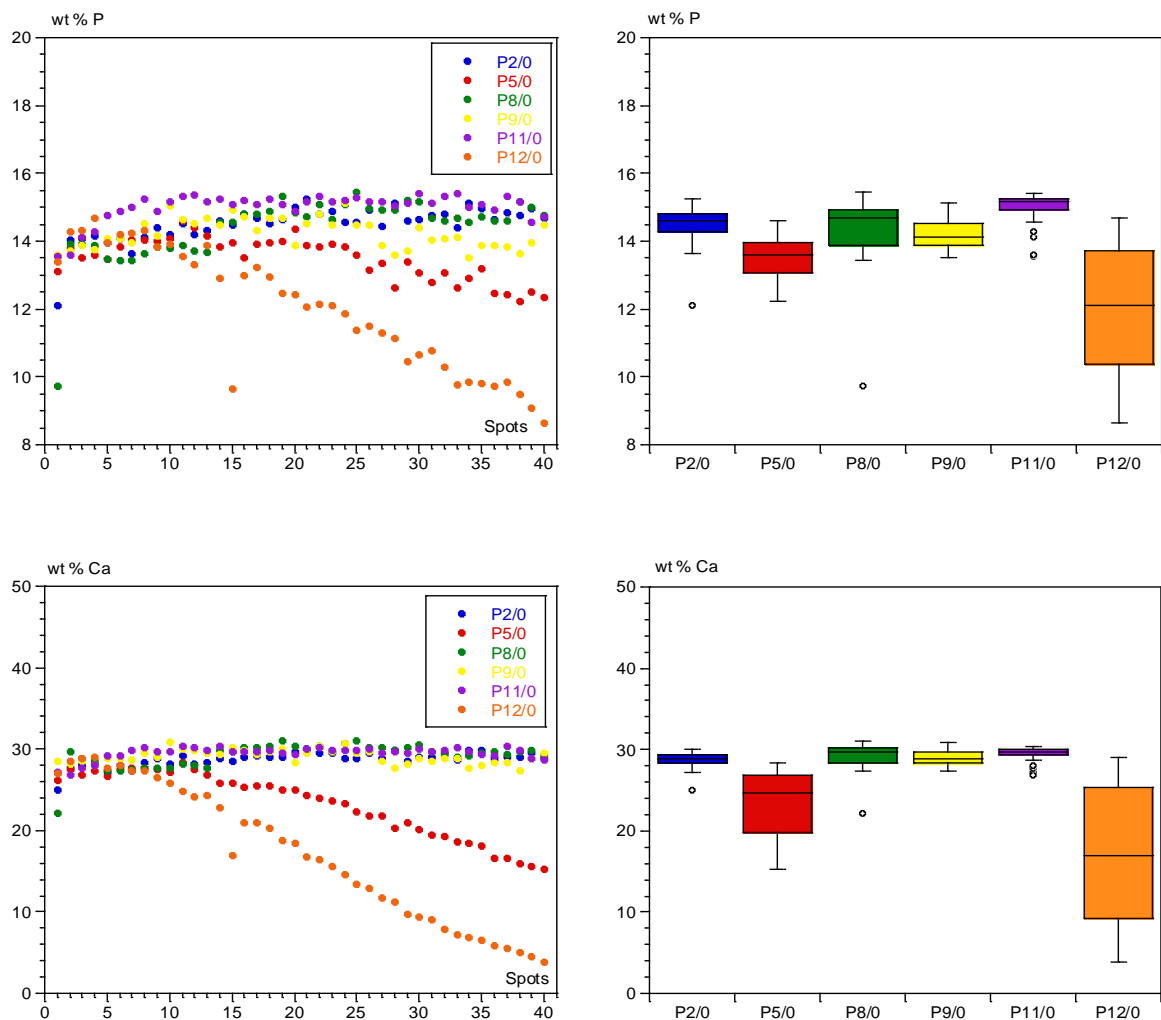


Figure 54: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément phosphore (P) et calcium (Ca) dans la dentine radiculaire des 6 échantillons

Au niveau du phosphore et du calcium, les valeurs sont assez homogènes pour tous les échantillons jusqu'au 9^{ième} spot pour l'échantillon P12 et 14^{ième} spot pour l'échantillon P5 qui se dissocient du reste des échantillons et entament une chute libre (plus marqué sur l'échantillon P12).

Les valeurs (hormis P5 et P12) sont assez linéaires, comprises entre 15,43 et 14,58 pour le phosphore et entre 30,99 et 26,13 pour le calcium.

Concernant l'échantillon P5, entre les spots 14 et 40, le phosphore est compris entre 13,83 et 12,34 et le calcium entre 25,86 et 15,32.

Pour l'échantillon P12, entre les spots 9 et 40, le % massique en phosphore est compris entre 13,85 et 8,64 et en calcium entre 26,47 et 3,91.

On remarque que les pourcentages massiques en phosphate et calcium, entre la dentine coronaire et la dentine radiculaire, sont quasi identiques.

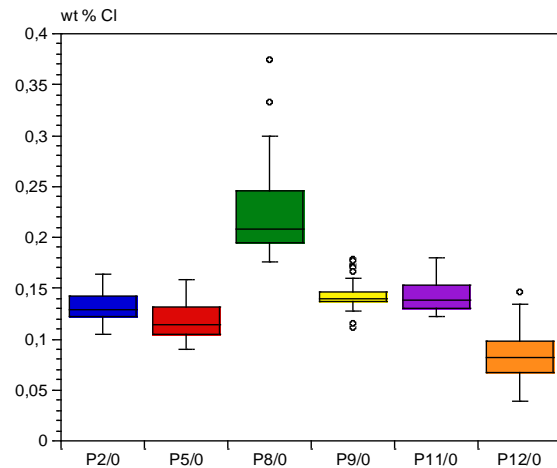
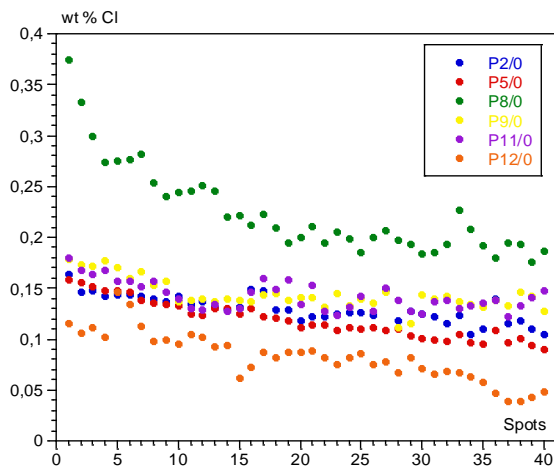
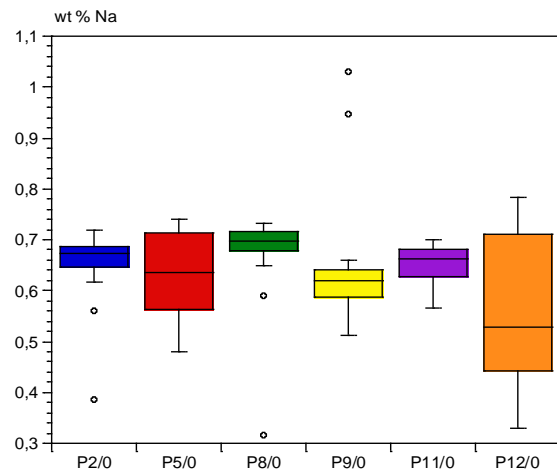
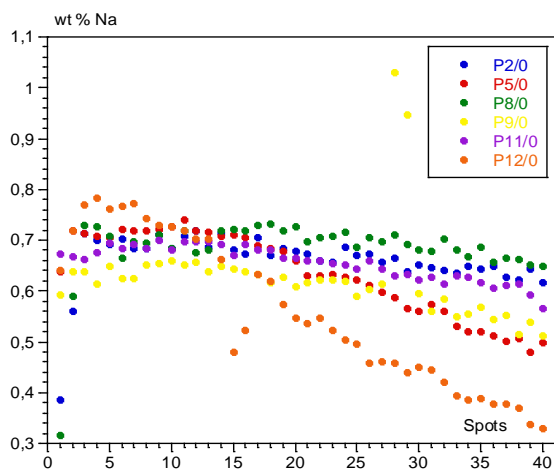
Le tableau ci-dessous récapitule les moyennes et écart-types des % massiques du Ca et P, ainsi que du calcul du rapport Ca/P dans l'émail et les dentines coronaires et radiculaires.

	P2/0	P5/0	P8/0	P9/0	P11/0	P12/0
EMAIL						
P	17,66 ± 0,33	16,93 ± 2,87	17,59 ± 0,46	17,20 ± 2,18	18,32 ± 0,26	16,26 ± 2,04
Ca	36,36 ± 0,68	34,42 ± 7,06	36,57 ± 0,91	35,44 ± 4,71	37,06 ± 0,50	29,24 ± 7,84
Ca /P	2 ,05 ± 0,01	2,00 ± 0,20	2,07 ± 0,02	2,05 ± 0,03	2,02 ± 0,02	1,76 ± 0,26
DENTINE CORONAIRE						
P	13,09 ± 2,22	14,31 ± 0,51	14,11 ± 0,79	14,35 ± 0,44	13,58 ± 2,54	9,33 ± 0,99
Ca	26,23 ± 4,74	28,09 ± 0,90	29,14 ± 1,74	29,17 ± 0,92	27,70 ± 5,05	6,58 ± 3,14
Ca/P	1,99 ± 0,06	1,96 ± 0,01	2,06 ± 0,02	2,03 ± 0,00	2,04 ± 0,03	0,68 ± 0,26
DENTINE RADICULAIRE						
P	14,51 ± 0,52	13,48 ± 0,62	14,39 ± 0,95	14,23 ± 0,43	15,00 ± 0,42	12,01 ± 1,78
Ca	28,77 ± 0,89	23,24 ± 4,06	29,19 ± 1,54	29,08 ± 0,85	29,52 ± 0,81	17,07 ± 8,42
Ca/P	1,98 ± 0,01	1,71 ± 0,24	2,03 ± 0,04	2,04 ± 0,01	1,96 ± 0,01	1,35 ± 0,52

Tableau 14: Moyennes et écart-types du pourcentage massique des échantillons en éléments phosphore (P) et calcium (Ca) et du rapport Ca/P dans l'émail et les dentines coronaire et radiculaire

Le rapport Ca/P moyen de nos échantillons tourne au alentour de 2, hormis l'échantillon P12 (au niveau coronaire et radulaire) et P5 (au niveau de la dentine radulaire) qui présentent des valeurs en dessous (ce qui était attendu vu que l'on a observé des valeurs en phosphore et calcium en chute libre).

Ce rapport est conforme à la littérature et assez stable dans le temps (Gruner et al. 1937; Hillson 1996; Nganvongpanit et al. 2017).



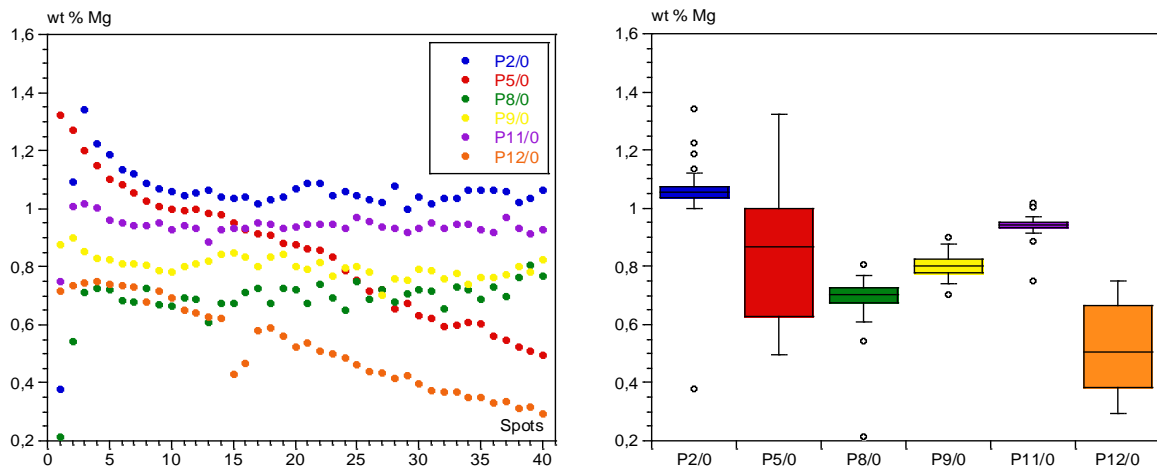


Figure 55: Graphique représentant le % massique (wt %) de l'élément sodium (Na), chlore (Cl) et Magnésium (Mg) dans la dentine radiculaire des 6 échantillons

Pour les éléments mineurs, on observe une moins bonne homogénéité entre les échantillons. Au niveau des nuages de points, les valeurs des éléments de chaque échantillon diminuent en se rapprochant de la pulpe.

2) Comparaison des échantillons T0 et T1

Comparaison des éléments majeurs P et Ca entre T0 et T1

- Au niveau coronaire
 - Au niveau de l'émail

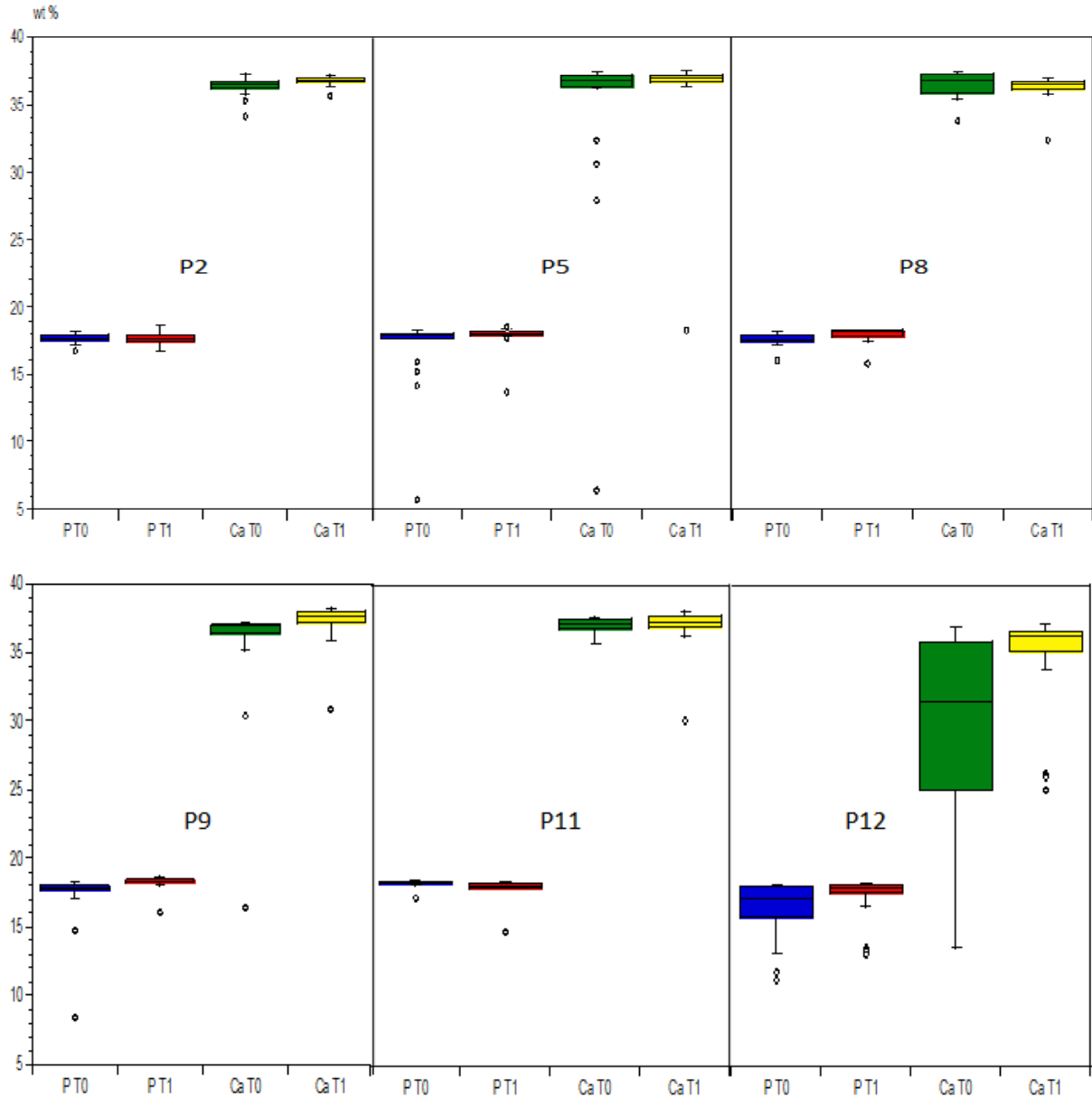


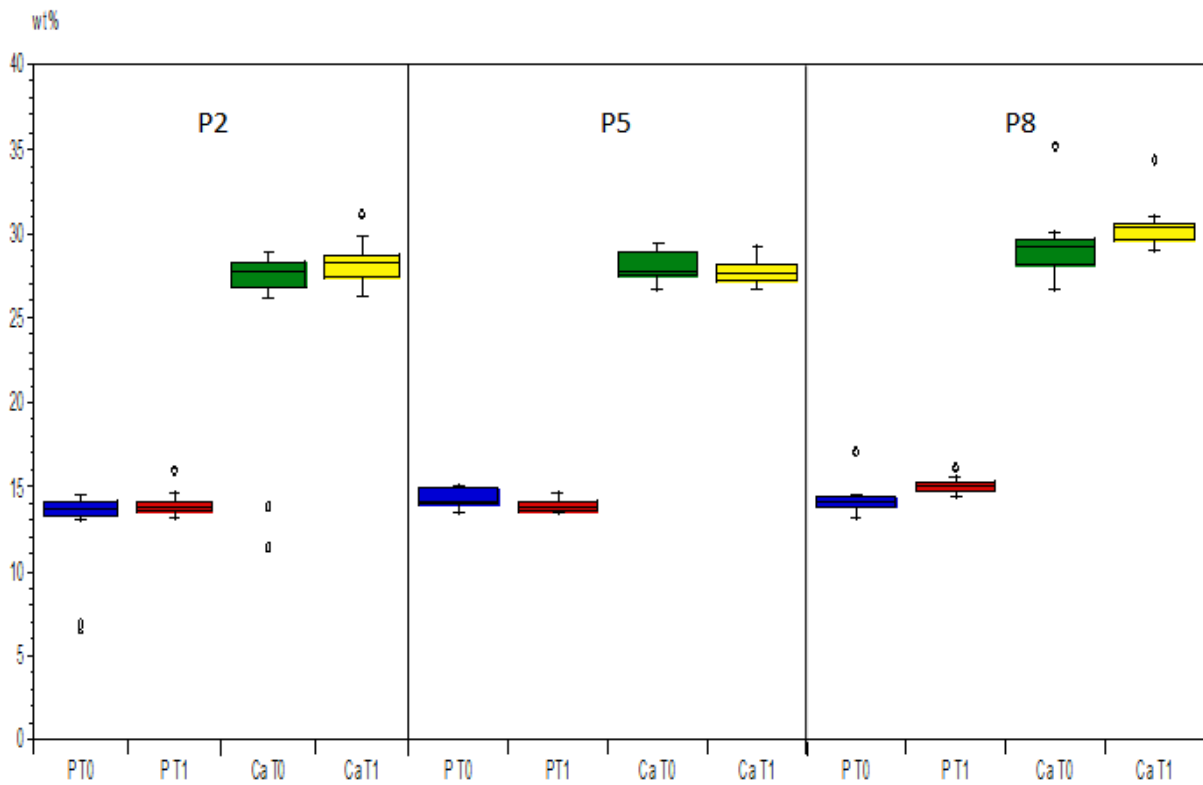
Figure 56: Comparaison du % massique (wt %) du phosphore (P) et du calcium (Ca) entre les échantillons à T0 et T1 au niveau de l'émail

EMAIL	Echantillons comparés	P value pour P	Conclusion	P value pour Ca	Conclusion
	P2/0 et P2/1	0,820	P2/0 = P2/1	0,006	P2/0 ≠ P2/1
	P5/0 et P5/1	0,071	P5/0 = P5/1	0,242	P5/0 = P5/1
	P8/0 et P8/1	0,001	P8/0 ≠ P8/1	0,071	P8/0 = P8/1
	P9/0 et P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1	0,0002	P9/0 ≠ P9/1
	P11/0 et P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	0,264	P11/0 = P11/1
	P12/0 et P12/1	0,078	P12/0 = P12/1	0,016	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 15: Statistiques de la composition en P et Ca entre T0 et T1 dans l'émail

Nous pouvons conclure statistiquement qu'au niveau de l'émail 3 échantillons sur 6 (50%) présentent une différence significative de leur composition de phosphore (P8, P9, P11) et de calcium (P2, P9, P12). Seul le couple d'échantillon P9 présente une différence significative dans leurs compositions en phosphore et calcium.

- Au niveau de la dentine



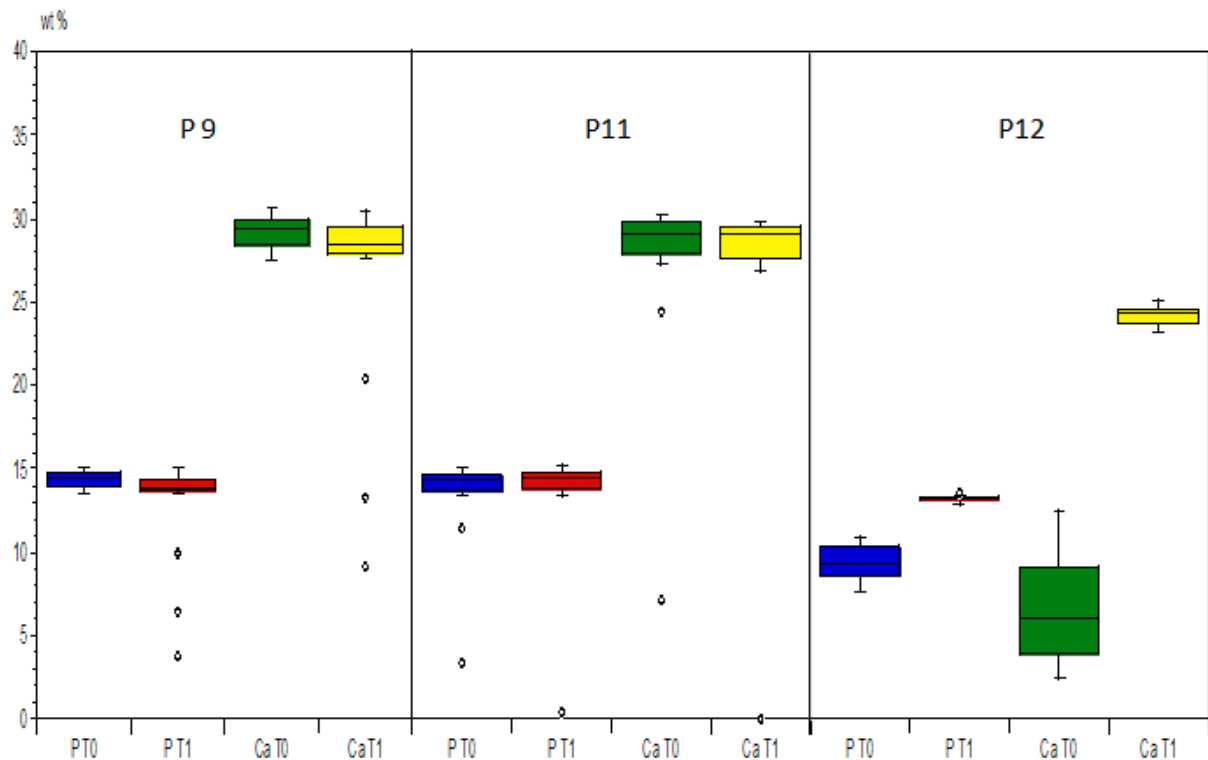


Figure 57: Comparaison du % massique (wt %) du phosphore (P) et du calcium (Ca) entre les échantillons à T0 et T1 au niveau de la dentine coronaire

DENTINE CORONAIRE	Echantillons comparés	P value pour P	Conclusion	P value pour Ca	Conclusion
	P2/0 et P2/1	0,461	P2/0 = P2/1	0,102	P2/0 = P2/1
	P5/0 et P5/1	0,026	P5/0 ≠ P5/1	0,182	P5/0 = P5/1
	P8/0 et P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1
	P9/0 et P9/1	0,016	P9/0 ≠ P9/1	0,107	P9/0 = P9/1
	P11/0 et P11/1	0,445	P11/0 = P11/1	0,477	P11/0 = P11/1
	P12/0 et P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 16: Statistiques de la composition en P et Ca entre T0 et T1 dans la dentine coronaire

Nous pouvons conclure statistiquement que dans la dentine coronaire, tous les couples d'échantillons présentent au moins une différence significative soit au niveau de la composition en phosphore soit en calcium, hormis le couple d'échantillon P2 et P11.

Nous remarquons qu'au niveau coronaire après 1 an d'immersion, les modifications de la composition en calcium et phosphore ne sont pas homogènes entre les différents couples car ce ne sont jamais le même couple qui présente une différence significative. De ce fait nous ne pouvons pas en dégager une tendance générale. Nous le verrons en détail lors de la discussion, que cela peut s'expliquer par la biominéralisation des micro-organismes après leurs forages dans la dentine (la biominéralisation va entraîner une nouvelle formation d'éléments minéraux qui va compenser la perte des compositions minérales lors du processus de tunnélisation, pour un % massique des éléments quasi identique).

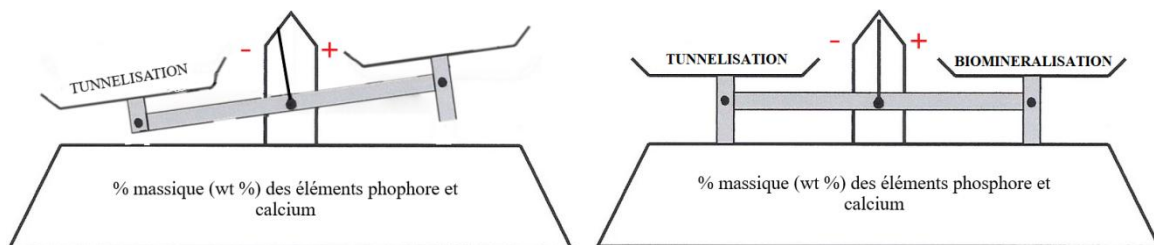


Figure 58: schéma des wt % des éléments phosphore et calcium

➤ Au niveau radiculaire (dentine)

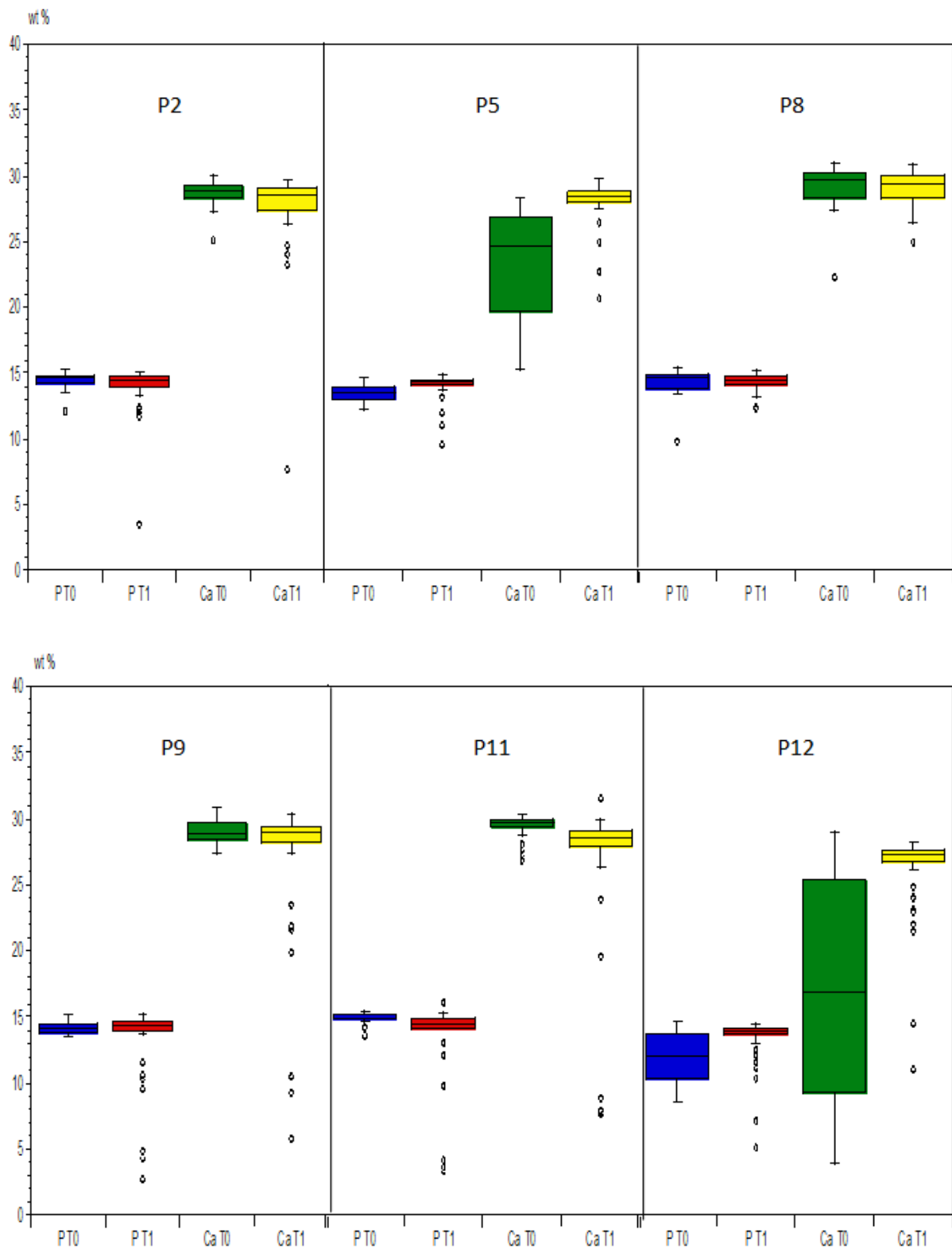


Figure 59: Comparaison du % massique (wt %) du phosphore (P) et du calcium (Ca) entre les échantillons à T0 et T1 au niveau de la dentine radiculaire

DENTINE RADICULAIRE	Echantillons comparés	P value pour P	Conclusion	P value pour Ca	Conclusion
	P2/0 et P2/1	0,211	P2/0 = P2/1	0,077	P2/0 = P2/1
	P5/0 et P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1
	P8/0 et P8/1	0,635	P8/0 = P8/1	0,628	P8/0 = P8/1
	P9/0 et P9/1	0,423	P9/0 = P9/1	0,210	P9/0 = P9/1
	P11/0 et P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1
	P12/0 et P12/1	0,0003	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1

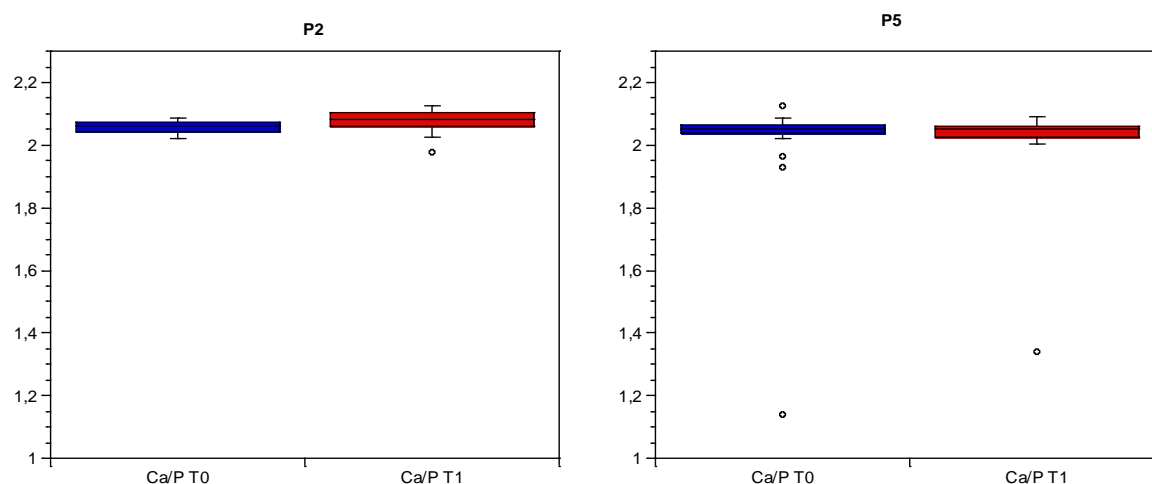
Tableau 17: Statistiques de la composition en P et Ca entre T0 et T1 dans la dentine radiculaire

Concernant la dentine radiculaire trois couples d'échantillons sont significativement différents (P5, P11, P12) et les trois autres ne montrent pas de différence significative (P2, P8, P9) que ce soit pour la composition en phosphore ou en calcium. Cela ne nous permet pas de dégager une tendance générale sachant que nous sommes à 50/50.

3) Comparaison du rapport Ca/P entre T0 et T1

Au niveau coronaire et radiculaire

➤ Email



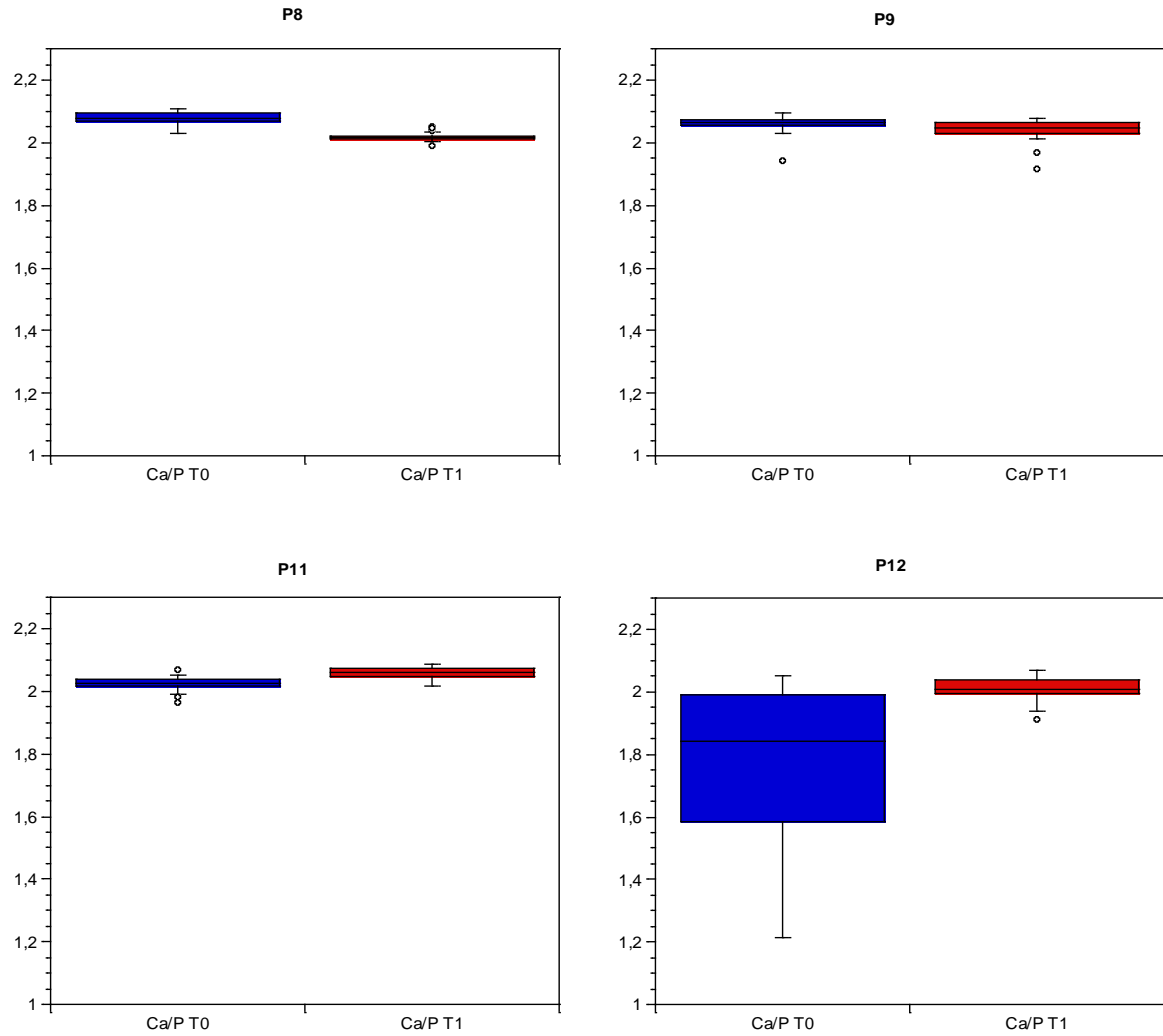
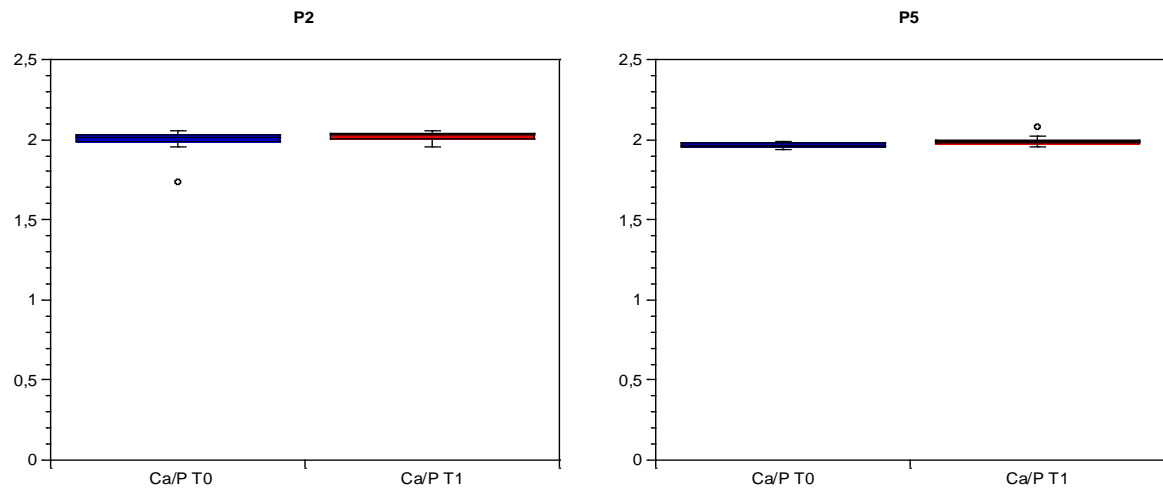


Figure 60: Comparaison du rapport Ca/P calculé à partir du pourcentage massique en éléments, entre les échantillons T0 et T1 au niveau de l'émail

➤ Dentine coronaire



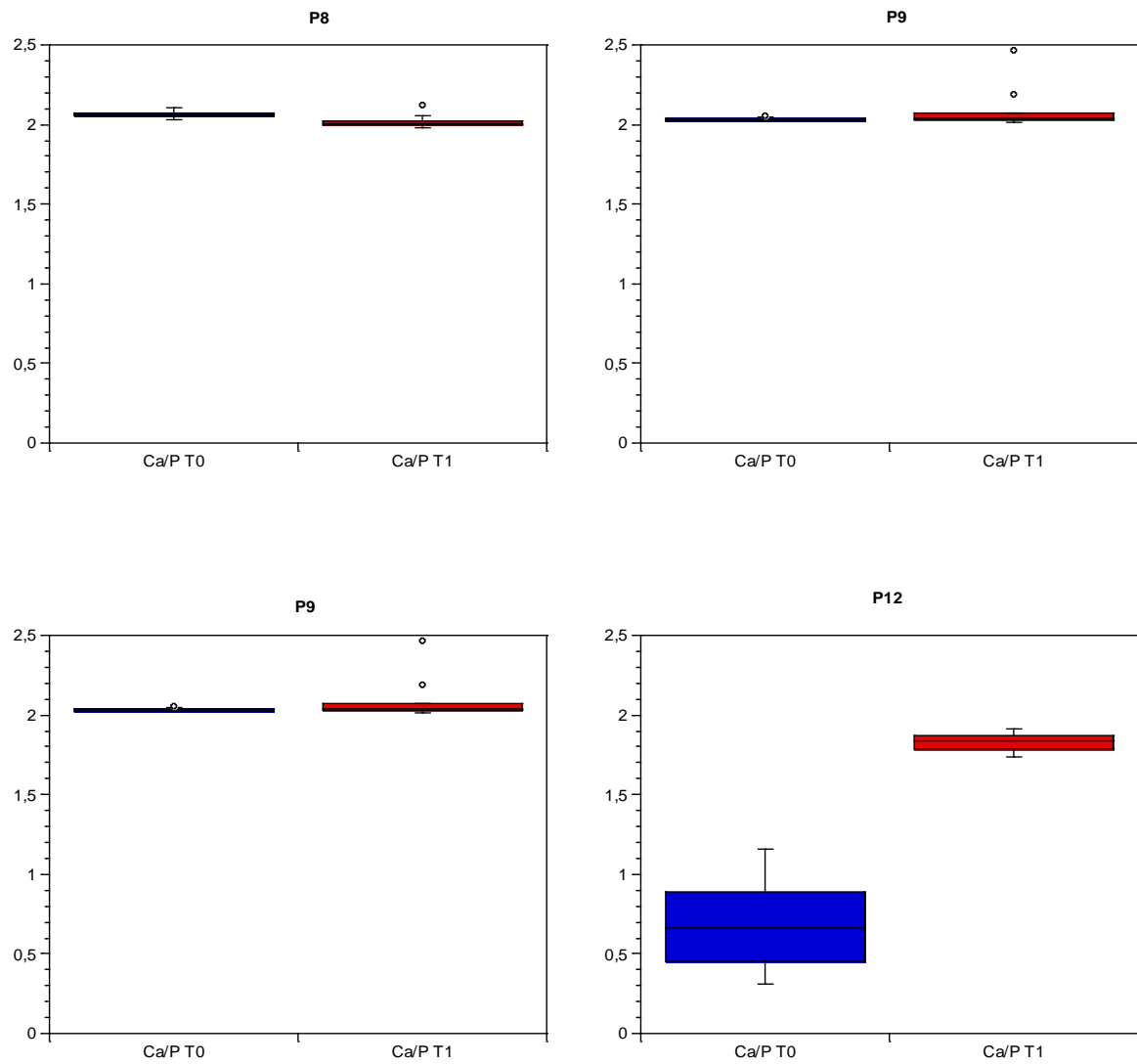


Figure 61: Comparaison du rapport Ca/P calculé à partir du pourcentage massique en éléments, entre les échantillons T0 et T1 au niveau de la dentine coronaire

➤ Dentine radiculaire

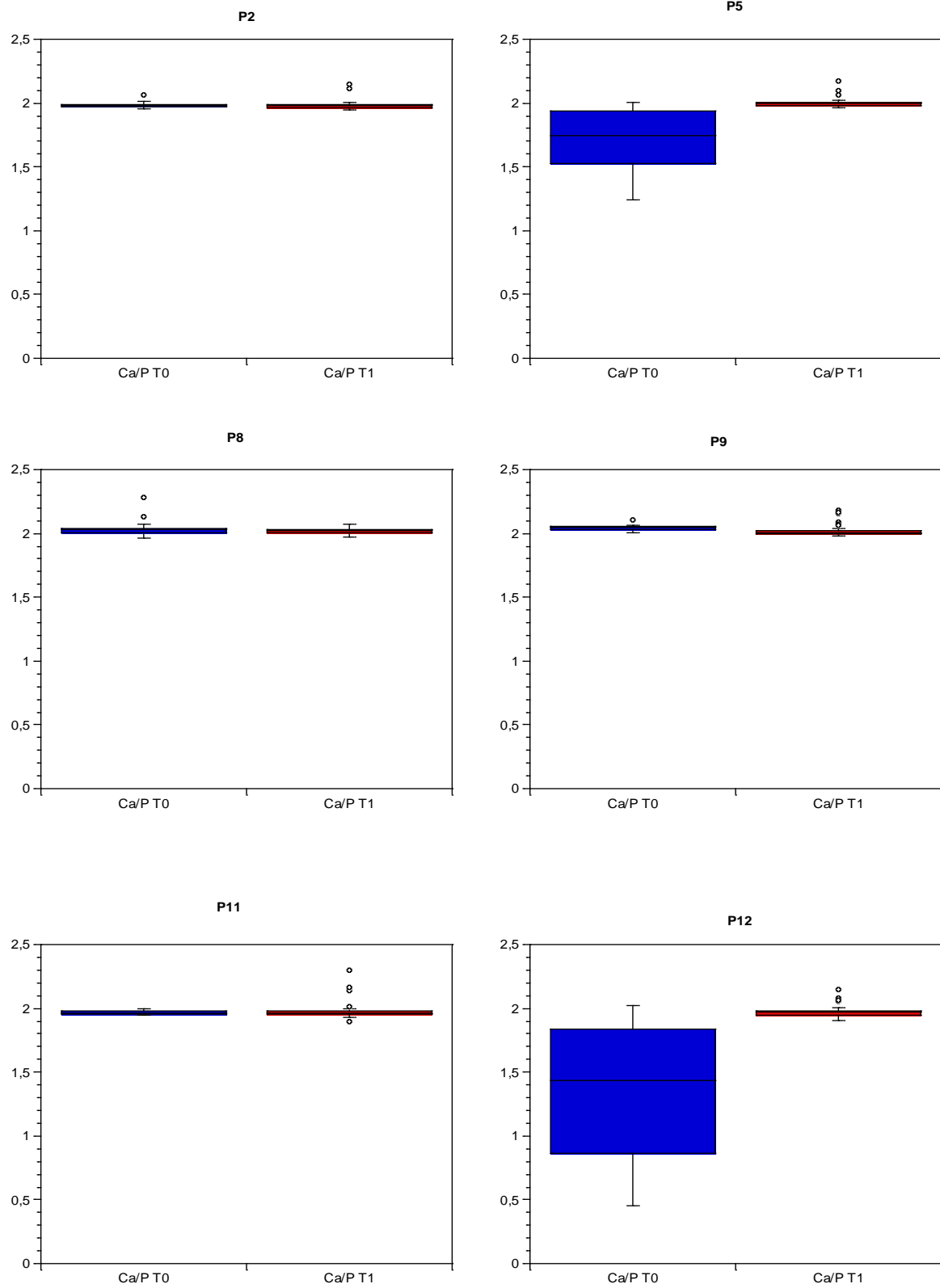


Figure 62: Comparaison du rapport Ca/P calculé à partir du pourcentage massique en éléments, entre les échantillons T0 et T1 au niveau de la dentine radiculaire.

	P2/0	P2/1	P5/0	P5/1	P8/0	P8/1
EMAIL						
P	17,66 ± 0,33	17,69 ± 0,40	16,93 ± 2,87	17,85 ± 1,00	17,59 ± 0,46	17,94 ± 0,55
Ca	36,36 ± 0,68	36,74 ± 0,32	34,42 ± 7,06	36,06 ± 4,19	36,57 ± 0,91	36,23 ± 0,97
Ca/P	2,05 ± 0,01	2,07 ± 0,03	2,00 ± 0,20	2,01 ± 0,15	2,07 ± 0,02	2,01 ± 0,01
DENTINE CORONAIRE						
P	13,09 ± 2,22	13,93 ± 0,62	14,31 ± 0,51	13,93 ± 0,34	14,11 ± 0,79	15,04 ± 0,43
Ca	26,23 ± 4,74	28,19 ± 1,15	28,09 ± 0,90	27,74 ± 0,71	29,14 ± 1,74	30,32 ± 1,12
Ca/P	1,99 ± 0,06	2,02 ± 0,02	1,96 ± 0,01	1,99 ± 0,02	2,06 ± 0,02	2,01 ± 0,03
DENTINE RADICULAIRE						
P	14,51 ± 0,52	13,95 ± 1,88	13,48 ± 0,62	14,03 ± 1,02	14,39 ± 0,95	14,42 ± 0,59
Ca	28,77 ± 0,89	27,64 ± 3,58	23,24 ± 4,06	28,07 ± 1,71	29,19 ± 1,54	29,11 ± 1,29
Ca/P	1,98 ± 0,01	1,98 ± 0,03	1,71 ± 0,24	2,00 ± 0,03	2,03 ± 0,04	2,08 ± 0,02

Tableaux 18: Moyennes et écart-types des compositions en Ca, P et du rapport Ca/P dans l'émail et les dentines coronaires et radiculaires à T0/T, en % massique pour les échantillons P2, P5, P8

	P9/0	P9/1	P11/0	P11/1	P12/0	P12/0
EMAIL						
P	17,20 ± 2,18	18,24 ± 0,53	18,32 ± 0,26	17,95 ± 0,75	16,26 ± 2,04	17,21 ± 1,70
Ca	35,44 ± 4,71	37,20 ± 1,59	37,06 ± 0,50	36,96 ± 1,67	29,24 ± 7,84	34,58 ± 3,87
Ca/P	2,05 ± 0,03	2,03 ± 0,03	2,02 ± 0,02	2,05 ± 0,01	1,76 ± 0,26	2,00 ± 0,03
DENTINE CORONAIRE						
P	14,35 ± 0,44	12,99 ± 2,92	13,58 ± 2,54	13,68 ± 3,14	9,33 ± 0,99	13,23 ± 0,15
Ca	29,17 ± 0,92	26,71 ± 5,73	27,70 ± 5,05	27,34 ± 6,49	6,58 ± 3,14	24,25 ± 0,56
Ca/P	2,03 ± 0,00	2,07 ± 0,09	2,04 ± 0,03	1,90 ± 0,42	0,68 ± 0,26	1,83 ± 0,05
DENTINE RADICULAIRE						
P	14,23 ± 0,43	13,31 ± 2,99	15,00 ± 0,42	13,61 ± 3,01	12,01 ± 1,78	13,22 ± 1,93
Ca	29,08 ± 0,85	26,80 ± 5,79	29,52 ± 0,81	26,82 ± 5,67	17,07 ± 8,42	26,02 ± 3,53
Ca/P	2,04 ± 0,01	2,02 ± 0,04	1,96 ± 0,01	1,98 ± 0,06	1,35 ± 0,52	1,97 ± 0,04

Tableaux 19: Moyennes et écart-types des compositions en Ca, P et du rapport Ca/P dans l'émail et les dentines coronaires et radiculaires à T0/T, en % massique pour les échantillons P9, P11, P12

Echantillons comparés	EMAIL		DENTINE CORONAIRE		DENTINE RADICULAIRE	
	p-value Ca/P	Conclusion	p-value Ca/P	Conclusion	p-value Ca/P	Conclusion
P2/0 et P2/1	0,024	P2/0 ≠ P2/1	0,024	P2/0 ≠ P2/1	0,255	P2/0 = P2/1
P5/0 et P5/1	0,758	P5/0 = P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1
P8/0 et P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1	0,243	P8/0 = P8/1
P9/0 et P9/1	0,024	P9/0 ≠ P9/1	0,021	P9/0 ≠ P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1
P11/0 et P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	0,807	P11/0 = P11/1
P12/0 et P12/1	0,0006	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 20: Statistique du rapport Ca/P entre T0 et T1 dans l'émail et les dentines coronaires et radiculaire

Nous pouvons conclure, suite aux résultats ci-dessus, que seul l'échantillon P9 présente une différence significative du rapport Ca/P sur les 3 surfaces dentaires étudiées.

Concernant l'émail, seul l'échantillon P5 ne présente pas de différence significative. Au niveau de la dentine coronaire, 100% des échantillons présentent une différence significative. Enfin dans la dentine radiculaire, une différence significative est présente sur 50% des échantillons (P5, P9, P12).

4) Comparaison des mineurs Na et Cl entre T0 et T1

➤ Au niveau coronaire

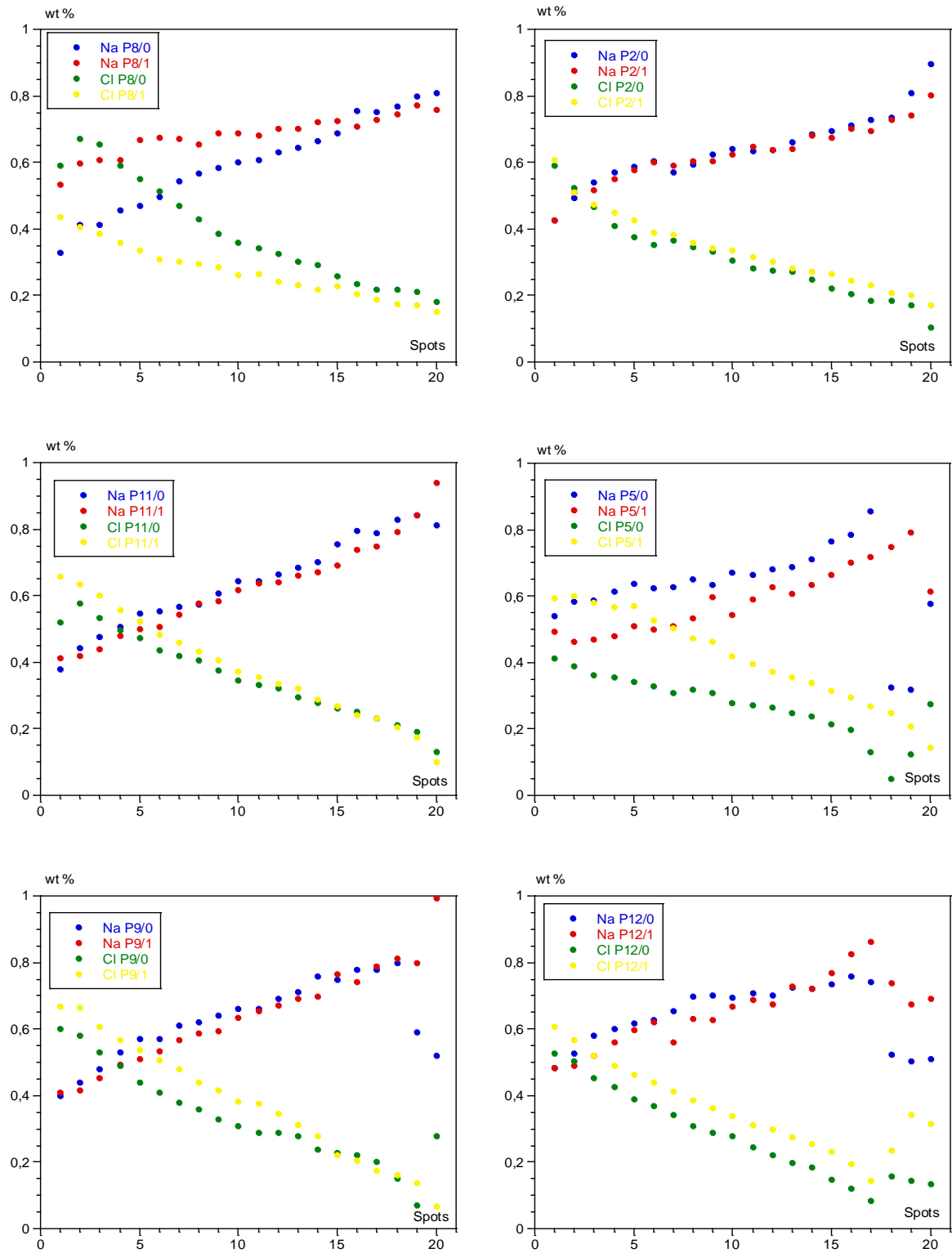
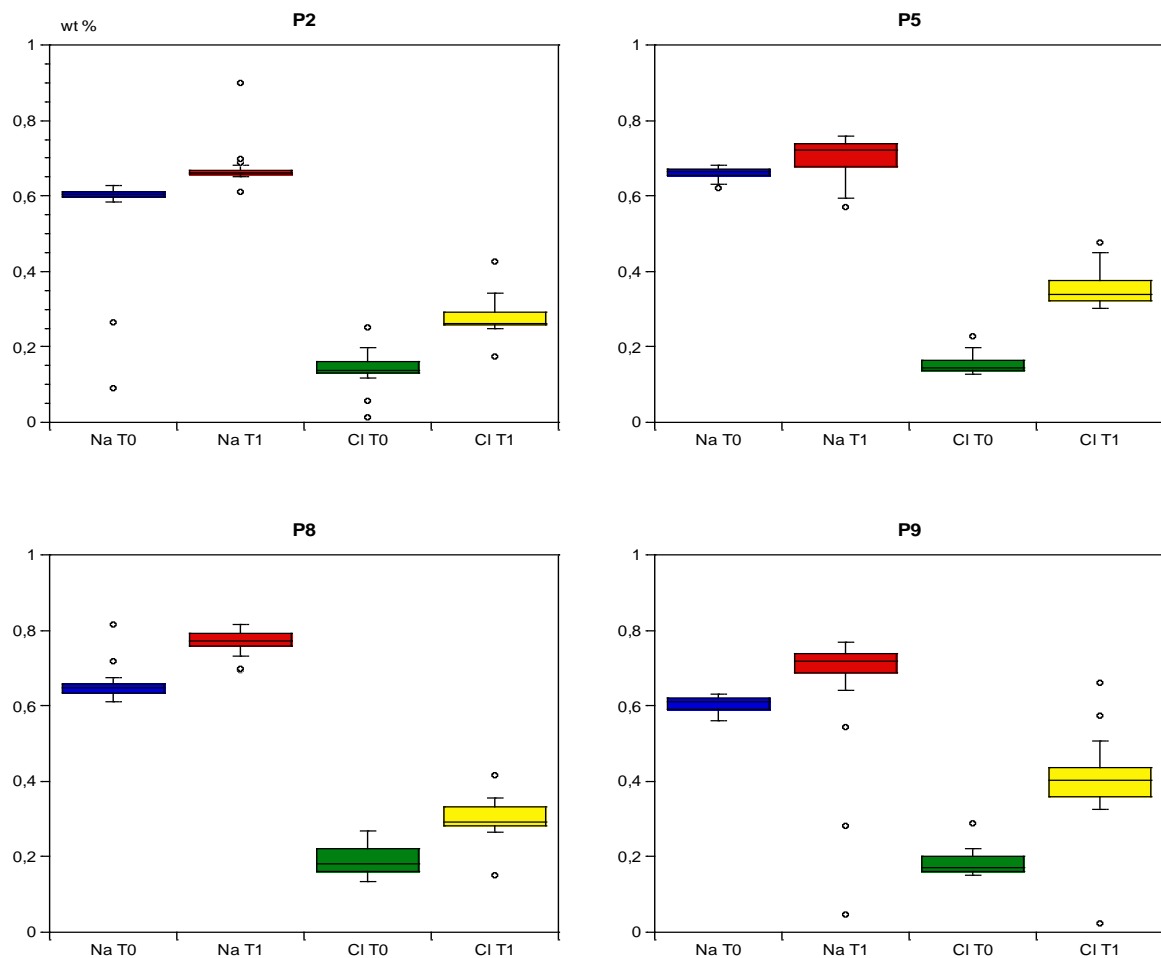


Figure 63: Comparaison du % massique (wt %) en sodium (Na) et chlore (Cl) entre les échantillons à T0 et T1 au niveau de l'émail

EMAIL	Echantillons comparés	p-value pour Na	Conclusion	p-value pour Cl	Conclusion
	P2/0 et P2/1	0,883	P2/0 = P2/1	0,477	P2/0 = P2/1
	P5/0 et P5/1	0,127	P5/0 = P5/1	0,001	P5/0 ≠ P5/1
	P8/0 et P8/1	0,052	P8/0 ≠ P8/1	0,021	P8/0 ≠ P8/1
	P9/0 et P9/1	0,860	P9/0 = P9/1	0,424	P9/0 = P9/1
	P11/0 et P11/1	0,601	P11/0 = P11/1	0,620	P11/0 = P11/1
	P12/0 et P12/1	0,862	P12/0 = P12/1	0,059	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 21: Statistiques de la composition en Na et Cl entre T0 et T1 dans l'email

Nous pouvons conclure statistiquement que dans l'email, uniquement les échantillons P8 présentent une différence significative de leur composition en sodium. Alors qu'il existe une différence significative uniquement pour les échantillons P5, P8 et P12 concernant la composition en Chlore.



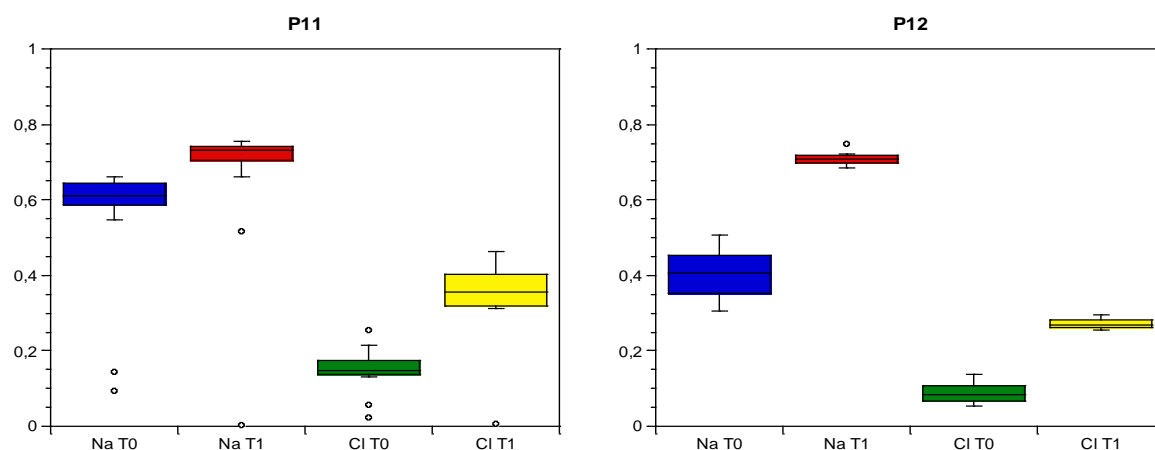


Figure 64: Comparaison du % massique (wt %) en sodium (Na) et chlore (Cl) entre les échantillons T0 et T1 au niveau de la dentine coronaire

DENTINE CORONAIRE	Echantillons comparés	p-value pour Na	Conclusion	p-value pour Cl	Conclusion
	P2/0 et P2/1	<0,0001	P2/0 ≠ P2/1	<0,0001	P2/0 ≠ P2/1
	P5/0 et P5/1	0,0004	P5/0 ≠ P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1
	P8/0 et P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1
	P9/0 et P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1
	P11/0 et P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1
	P12/0 et P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 20: Statistiques de la composition en Na et Cl entre T0 et T1 dans la dentine coronaire

Concernant la dentine coronaire, on observe une différence significative pour 100% des échantillons. La composition en sodium et chlore au niveau de la dentine coronaire dans nos échantillons à T1 augmente par rapport à T0.

➤ Au niveau radriculaire

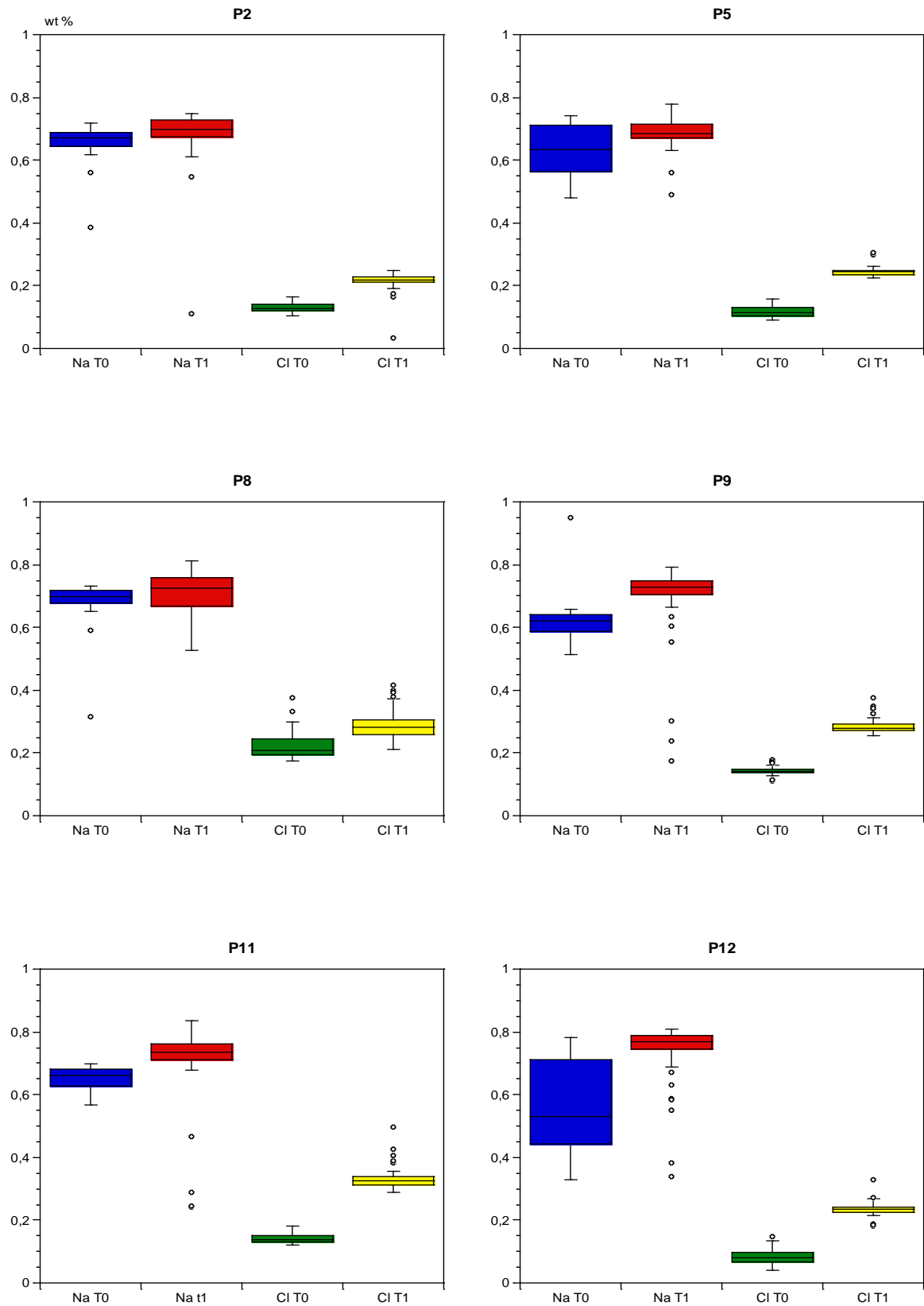


Figure 65: Comparaison du % massique (wt %) en sodium (Na) et chlore (Cl) entre les échantillons T0 et T1 au niveau de la dentine radriculaire

DENTINE CORONAIRE	Echantillons comparés	p-value pour Na	Conclusion	p-value pour Cl	Conclusion
	P2/0 et P2/1	0,0005	P2/0 ≠ P2/1	<0,0001	P2/0 ≠ P2/1
	P5/0 et P5/1	0,021	P5/0 ≠ P5/1	<0,0001	P5/0 ≠ P5/1
	P8/0 et P8/1	0,024	P8/0 ≠ P8/1	<0,0001	P8/0 ≠ P8/1
	P9/0 et P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1	<0,0001	P9/0 ≠ P9/1
	P11/0 et P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1	<0,0001	P11/0 ≠ P11/1
	P12/0 et P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1	<0,0001	P12/0 ≠ P12/1

Tableau 23: Statistiques de la composition en Na et Cl entre T0 et T1 dans la dentine radiculaire

Dans la dentine radiculaire, nous observons tout comme la dentine coronaire une différence significative sur 100 % des échantillons dans la composition en sodium et chlore.

Nous pouvons conclure d'après les résultats ci-dessus, que la dentine semble être plus sensible que l'émail avec une différence significative dans leur composition en sodium et chlore à T1 par rapport à T0 dans le sens d'une augmentation des valeurs de sodium et chlore.

4. DISCUSSION

4.1. Evaluation des biais

N.B.: Nous avons minimisé au maximum les biais. Nous indiquerons le niveau de chaque biais par: faible, moyen ou important.

4.1.1. Biais liés aux échantillons

Les dents que nous avons sélectionnées pour l'étude sont des prémolaires maxillaires et mandibulaires avulsées pour des raisons orthodontiques chez des adolescents âgés de 12 et 13 ans. Ces dents étaient toutes en occlusion dans la cavité buccale. Ce biais est faible car nous avons essayé d'utiliser des échantillons de patients d'à-peu-près le même âge.

La composition minérale des différents éléments des tissus dentaires n'est pas la même pour chaque individu (et peut même différer entre 2 dents du même individu) car cette composition dépend de facteurs génétiques, environnementaux (alimentation, habitudes de vie...). En effet, des études de synthèse sur l'érosion dentaire portant sur des enfants âgés de 9 à 17 ans ont montré une prévalence de l'érosion dentaire comprise entre 11 % et 100 % (Jaeggi et Lussi 2006). La tunnelisation dentinaire sera surement plus importante en présence d'une érosion amélaire importante du fait de la perte de la couche protectrice qu'est l'émail.

4.1.2. Biais liés au protocole de l'étude

Conditions d'immersion :

- Les échantillons dentaires ont été immergés à l'aide de flacons d'analyses percés disposés dans un filet avec des mailles très fines, ce qui entraîne surement une attaque moindre des rongeurs (crabes, crevette...) due à de cette double barrière non physiologique créant un filtre. Ce biais est faible car nos échantillons ont été attaqués principalement par des micro-organismes.

- De plus d'autres pièces d'études ont été immergées à proximité des dents ce qui pouvait entraîner des interactions entre les différents échantillons avec une éventuelle sélectivité d'un autre échantillon (qui serait plus riche en calcium) par les prédateurs au détriment de nos échantillons. Ce biais est faible vu la distance entre nos échantillons et les autres sur la plateforme.



Figure 66 : Disposition des différents échantillons. Le filet contenant les échantillons de notre étude est entouré en rouge

- Nos échantillons ont été reliés entre eux par du fil galvanisé qui a entraîné des traces de rouille sur quelques dents, ce qui peut modifier les valeurs des éléments à la microsonde. Ce biais est moyen car lors de crash d'avion en mer, des éléments de composition de l'avion peuvent rouiller à proximité des cadavres.



Figure 67: Trace de rouille de l'échantillon 8 immergé

- Les dents ont été isolées de leurs tissus de soutien (os alvéolaire et gencive) qui permet une protection des racines (biais important). Dans le cas présent, l'absence de ces tissus a facilité l'action du milieu extérieur par l'attaque plus rapide des micro-organismes au niveau des racines ce qui a entraîné une modification diagénétique surement plus rapide qu'avec la présence des tissus de soutiens. Pour pallier ce biais, il pourrait être intéressant, d'immerger au même endroit et pour la même période une héli ou une mâchoire entière d'un don d'organe humain, avec tous les tissus de soutien et de comparer (après extraction des dents) les modifications diagénétiques

avec nos échantillons. Une précédente étude a stipulé l'immersion d'un modèle dentaire animal (Boudy 2018) mais selon quelques études la composition n'est pas tout à fait la même. La squelettisation complète du corps, y compris du cartilage, se fait au bout de 3 mois d'immersion. Suite à un crash d'hélicoptère en Sicile, des restes humains ont été retrouvés, après 34 jours, à une profondeur de 540-580 m de profondeur. Le crâne a été quasiment squelettisé avec le début de formation d'adipocire. La surface de l'os ne présentait aucune abrasion, bioérosion, dissolution ou incrustation. Les dents étaient complètes et avaient des racines roses (Dumser et Türkay 2008).

- De plus, les dents sont restées 1 an au même endroit sans bouger alors que normalement un corps ou élément d'un corps se déplace selon les courants avec une remontée des corps immergés (biais moyen). En effet, le cadavre dans l'eau est soumis à deux principaux types de déplacements (vertical et horizontal) que l'on peut décrire en 3 étapes :

1°) Lorsque la personne décède, elle coule progressivement au fond de l'eau car la densité d'un corps (poumons vides d'air) est très légèrement supérieure à celle de l'eau. En même temps, le cadavre peut subir un déplacement sur une distance d'une grande variabilité selon le milieu de submersion (courants, navigations, crue ...).

2°) Lorsque le corps a atteint le fond, où les eaux sont moins agitées et les courants peu importants ou inexistant, il s'immobilise quelques temps avant de remonter à la surface sauf si un élément naturel le bloque au fond.

3°) Sous l'effet de la putréfaction qui provoque la formation de gaz et donne au corps un poids spécifique qui le fait flotter, le cadavre remonte alors progressivement à la surface et se retrouve entraîné de nouveau par le courant. Dans l'eau de mer, dont la densité en sel est importante, le corps remonte rapidement entre 3 et 7 jours par rapport à l'eau douce, entre 20 jours à 1 mois en moyenne.

- Le temps d'immersion est d'un an avec absence d'observation intermédiaire entre T0 et T1 (biais moyen) car il n'était pas prévu de remonter les échantillons dans la campagne de recherche à laquelle nous avons pu nous greffer.

Méthode d'analyse :

Sur les 15 lots sélectionnés pour l'étude, uniquement 6 lots ont pu être analysés au MEB et à la microsonde. Ce faible nombre d'échantillons rend notre étude statistiquement faible.

- De plus, il est possible que nos échantillons aient subi des modifications diagénétiques autre que celles liées au milieu marin (biais faible). En effet, suite aux extractions, les dents ont été conservées uniquement dans du sérum physiologique, puis envoyées dans le Sud par transporteur, puis en attente d'immersion, retour par transporteur à Paris, puis attente d'analyse sur plusieurs jours (parfois plusieurs semaines pour non disponibilité du MEB ou microsonde...).
- Il existe des altérations des échantillons lors de la découpe en héli-dent, puis en lame et polissage, ce qui a probablement entraîné des fêlures, fractures, suppression d'éléments par nettoyage des échantillons. Néanmoins, les fêlures et fractures sont sûrement provoquées par la pression importante à 545 m de profondeur (cf. chapitre 3.2.2 « Propriétés du milieu d'immersion »). De plus nous n'avons pas pu visualiser au MEB les héli-dents à l'état brut qui aurait permis peut être d'identifier plus d'éléments incrustés. Enfin, l'oxyde de cérium, utilisé pour polir les lames a pollué certaines images en MEB et a pu interférer lors de l'analyse à la microsonde.
- Lors de l'analyse à la microsonde, les spots passent parfois sur des fractures faussant les moyennes (car indique valeur proche de 0 d'un élément) mais nous en avons tenu compte.

4.2. Analyse des resultants

4.2.1. Email

Nous avons pu voir macroscopiquement et au MEB qu'au bout d'un an d'immersion à 545 mètres de profondeur dans la Mer Méditerranée, il y avait une absence de modification diagénétique au niveau de l'email. Ceci est confirmé dans la littérature sur dent animale (Underwood et al. 1999) ou humaine (Boudy 2018).

4.2.2. Dentine / Cément

Lors de cette étude, nous avons pu observer une altération très importante de la dentine radiculaire sur environ 200 à 700 μm d'épaisseur (front de déminéralisation qui débute à la hauteur du cément et qui pénètre la dentine radiculaire) selon les échantillons immergés. Cette altération était moindre, de l'ordre de 100 μm , dans une étude précédente dans le port du Havre à une profondeur de 0,70 m (Boudy 2018). Selon la littérature, l'intensité de l'activité endolithique diminue avec la profondeur (Vogel et al. 2007) alors que d'autres affirment que dans les eaux profondes, relativement moins agitées permettent à différentes communautés endolithiques de s'établir et d'excaver plus ou moins continuellement (Zeff et Perkins 1979). D'après une étude, dans les eaux peu profondes la majorité des traces de tunnélisation sont verticales alors qu'en profondeur elles sont plutôt horizontales.

Le motif des tunnélisations prédominant est toujours perpendiculaire à la surface du substrat, mais certaines espèces peuvent changer leur motif en passant de perpendiculaire à parallèle avec une profondeur croissante (Königshof et Glaub 2004) et même à l'intérieur des tubules (Poole et Tratman 1978).

La taille des forages varie en fonction de l'organisme qui les a produits (Smits et Gadd 2006). Des tunnels de 2 à 6 μm de diamètre sont produits par la cyanobactérie *Plectonema* sp., ainsi que des trous allant de 20 à 40 μm de diamètre produits par le chlorophyte (algue) *Ostreobium* sp. Pour les phototrophes, la profondeur de forage est définie par la profondeur maximale à laquelle la croissance phototrophe peut être maintenue, généralement de l'ordre de 1 à 3 mm (Matthes et al. 2001).

Dans notre étude les tunnélisations sont bien perpendiculaires à la surface et le diamètre des tunnels étaient de 4 à 6 μm .

4.3. Bioerosion

4.3.1. Définition

Cette altération, décrite pour la première fois par Neumann en 1966, sous le terme de bioérosion désigne l'action de divers organismes dégradant les substrats calcaires. La bioérosion désigne donc la dégradation provoquée par les activités des organismes végétaux et animaux qui forent dans le substrat ou érodent la surface. Les taux d'érosion selon la

littérature, sont élevés allant de 20 à 570 g de $\text{CaCO}_3 \text{ m}^{-2} \text{ an}^{-1}$ (Garcia-Pichel 2006). L'activité synergique des euendolithes (cyanobactéries, chlorophytes, rhodophytes et champignons) et des herbivores (gastéropodes, échinoides, poissons) est le processus le plus efficace en matière d'érosion par carbonate (Schneider et Torunski 1983). On peut donc penser, qu'avec ce haut taux d'érosion ajouté à la tunnélisation par les cyanobactéries et champignons, que l'organe dentaire isolé se conserve très mal en milieu marin. D'où la nécessité de récupérer les corps immergés (ou organe isolé) le plus rapidement possible après les catastrophes afin d'espérer d'identifier les victimes via les dents.

Le taux de bioérosion le plus élevé, a été mesuré sur les sites d'eau peu profonde (Golubic et al. 2005).

Dans notre étude, cette bioérosion se caractérise sous forme de tunnels creusés dans la matière minérale avec un diamètre de l'ordre de 4 à 6 μm . Certains auteurs ont indiqué que les galeries étaient associées à la perte préférentielle de collagène dentinaire (Poole et Tratman 1978). Selon la littérature, une large gamme d'organismes de forage chimiques sont connus pour infester les substrats calcaires, comprenant des macroforeurs (tels que éponges, bryozoaires, vers, mollusques, etc.) et microforeurs (principalement des bactéries, des champignons) (Golubic et al. 1975; Wisshak et al. 2005). Les micro-organismes endolithiques colonisent les substrats plus rapidement que tout autre groupe de bioérodeurs (Vogel et al. 2007). Dans notre étude il s'agit plutôt de l'attaque par les microforeurs car nos échantillons ont été protégés par un filet en maille.

Les endolithes dans les squelettes de coraux morts sont exposés au pâturage des mollusques, des échinodermes et des poissons scaridés, ce qui augmente considérablement les taux de bioérosion en général. En l'absence de pâturage intensif, les parties mortes du squelette de corail sont envahies par le gazon épilithique d'algues. La série de changements biologiques de succession provoqués par la mort et la dénudation de coraux modifie l'équilibre écologique entre les forces constructives et destructrices d'un récif corallien en faveur de ces derniers (Le Campion-Alsumard et al. 1995).

L'intensité de la bioérosion endolithique varie en fonction du degré d'influence marine sur le site de dépôt, de la vitesse de sédimentation et de la quantité générale de phosphate dans l'environnement de dépôt. Les dents des environnements non marins et quasi-marins présentent généralement un degré relativement faible de bioérosion (Underwood et al. 1999).

Carreiro-Silva et al. (2009) ont mené une expérience sur la microbioérosion sur des fragments de coquille sous différents modes de fertilisation. Lorsque de l'azote ou du phosphore organique était ajouté, la bioérosion par les microboreurs photosynthétiques était renforcée. Si l'on y ajoutait de la matière organique, les microbores hétérotrophes, principalement les champignons, devenaient plus dominants et colonisaient près de 50 % de la surface du substrat et érôdaient davantage la surface.

4.3.2. Description des micro-organismes

L'existence de populations microbiennes qui pénètrent et colonisent des substrats minéraux durs, principalement des phosphates, a été remarquée depuis le milieu du 19^e siècle (Golubic et al. 2005).

De nombreux endolithes microbiens peuvent tolérer les stress environnementaux extrêmes, y compris la dessiccation répétée, rayonnement ultraviolet intense, oligotrophie et température des extrêmes (McLoughlin et al. 2007).

La diversité et l'abondance des traces de tunnélisation diminuent de manière significative avec la profondeur et sont plus élevées sur les substrats posés face visible que ceux posés vers le bas, d'où les variations de profondeur retrouvées dans nos échantillons. Les différences entre années n'étaient pas aussi prononcées (Wisshak et al. 2011) même si nous avons remarqué une différence avec l'étude précédente qui a durée 6 mois (Boudy 2018). Les motifs de forage reflètent en partie la forme et le comportement des microorganismes endolithiques et en partie les propriétés structurelles du substrat (Che et al. 1996).

Une étude comparative dans la baie de Banyuls sur Mer a montré une augmentation de la richesse et de la composition de la macrofaune entre 2003 par rapport à 1967 et 1994 liés à des facteurs climatiques (Grémare et al. 1998).

De façon générale, le terme d'endolithe est utilisé pour désigner les organismes vivants microforeurs qui colonisent l'intérieur des roches carbonatées ou non et des substrats composés de carbonate de calcium. Ces endolithes sont classées comme suit :

- Chasmoendolithes (numéro 2 sur la figure): vivant dans les fissures ;

- Cryptoendolithes (numéro 3 sur la figure): vivant dans les cavités y compris les espaces produits et libérés par les euendolithes (endolithes perforants) ;
- Euendolithes (numéro 4 sur la figure): qui pénètrent activement (en creusant) et vivent dans la roche formant des tunnels (Golubic et al. 1975).

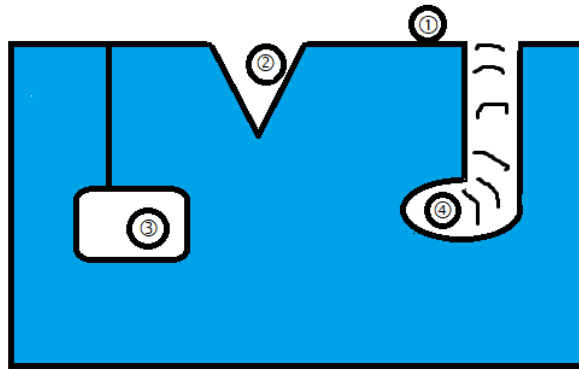


Figure 68: Schéma des différents types d'endolithes (Stjepko Golubic, Imre Friedmann, Ju 1981)

Les organismes endolithiques sont classés taxonomiquement comme biotaxa soit dans le Code international de nomenclature botanique (ICBN) ou dans le Code international de nomenclature zoologique (ICZN) (Wisshak et al. 2005).

Les Euendolithes pénètrent dans le calcaire, les coquilles de mollusques et autres substrats carbonatés ; en attaquant leur hôte ou en s'engageant dans une relation symbiotique. Elles laissent derrière elles des traces de leur passage en forme de tunnels, de différents diamètres, avec ou sans renflements.

Il a été constaté que le phosphate avait un effet stimulant et synchrone sur l'activité bactérienne en Mer Méditerranée (Wambeke et al. 2002).

L'habitat endolithique protège de la sécheresse excessive et des températures extrêmes (Kidron 2000) d'où des tunnélisations importante sur nos échantillons.

Mével en 2008, suggère une adaptation rapide des bactéries à la survenue épisodique de matière organique. La production bactérienne a diminué linéairement avec la profondeur sauf quelques pics de production situés entre 400 et 750 mètres (Mével et al. 2008). Nos échantillons sont situés dans ces profondeurs où la production bactérienne est importante.

Selon une étude à Banyuls sur Mer, un total de 8278 individus appartenant à 187 espèces (taxa) ont été identifiés (Grémare et al. 1998), soit entre 4 et 18 % des espèces marines du monde (Bianchi 2008).

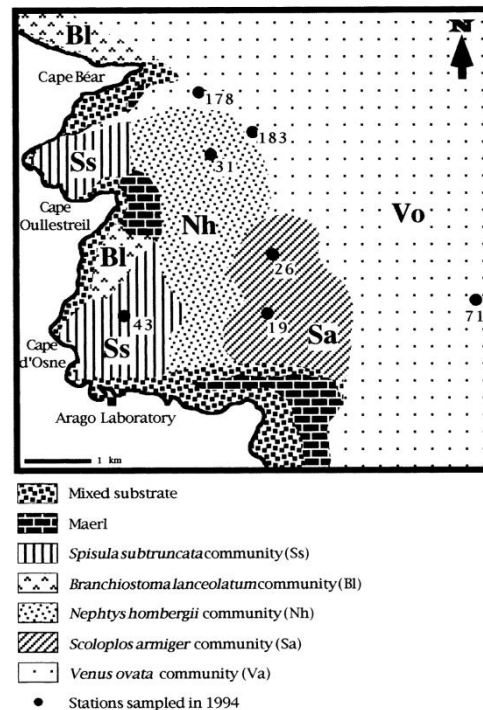


Figure 69: Cartographie des dominances des espèces ans la baie de Banyuls sur Mer (Grémare et al. 1998)

Une étude a montré que l'assemblage des micro-organismes varie d'un site à l'autre (Perry et Macdonald 2002) et varie avec les variations de profondeur, salinité, oxygène, température ... (Ghiglione et al. 2008).

Les cyanobactéries tendent à dominer dans les eaux peu profondes et les algues sont généralement plus présentes dans les eaux euphotiques plus profondes, tandis que les champignons ont tendance à être indépendants de la lumière (Garcia-Pichel 2006).

La lumière joue un rôle important pour la croissance et l'activité endolithique, ces dernières sont maximales avec un éclairage continu ou une période d'obscurité quotidienne (entre 4 et 8 heures) (Ramírez-Reinat et Garcia-Pichel 2012a). Cependant, à 545 m de profondeur dans notre étude, la lumière n'a pas joué un rôle primordial.

Une étude dans le nord-ouest de la mer Méditerranée a montré que l'activité des bactéries attachées (au substrat) est plus élevée la nuit (passage de l'activité bactérienne de 10 % le jour

à 83 % la nuit) alors que l'activité des bactéries libres se fait plutôt le jour. Les bactéries attachées ont fortement contribué à l'abondance totale des bactéries dans les couches profondes (250-1000 m) avec un maximum de 28,6 % à 250 m. De plus, le nombre de bactéries varie selon les mois, en effet dans cette même étude il a été indiqué que le nombre de bactéries libres et attachées était environ trois fois et six fois inférieur (respectivement) au mois d'Avril par rapport au mois de Mars (Ghiglione et al. 2007).

La limitation de carbone inorganique dissous améliore l'infestation endolithiques. Les cyanobactéries euendolithiques sont des photoautotrophes très répandues qui se développent en contact intime avec les substrats carbonatés (Stjepko Golubic, Imre Friedmann, Ju 1981) et pénètrent dans la surface minérale exposée (Pohl et Schneider 2002).

Les deux grandes familles de microforeurs responsable du processus de tunnélisations de nos échantillons sont les cyanobacteries et champignons. Il est difficile à ce stade de donner le nom exact de la cyanobactérie ou du champignon responsables des tunnels observés sur nos échantillons, d'autres études de culture devront être réalisées. Nous exposerons ici uniquement les grandes familles décrites dans la littérature.

➤ Cyanobactéries

Les cyanobactéries euendolithiques, également appelées cyanobactéries microbiennes, excavantes, perforantes ou à effet tunnel, peuvent pénétrer dans une variété de substrats calcaires, tels que des coquilles, du corail mort et du calcaire, par dissolution chimique. Outre les cyanobactéries, seuls les champignons et certaines algues eucaryotes sont capables de cette activité excavante. Elles sont impliquées dans la diagenèse des substrats qu'elles colonisent (Ramírez-Reinat et Garcia-Pichel 2012b).

Il existe 5 principaux groupes taxonomiques de cyanobactéries :

- Groupe I : ordre Nostocales
- Groupe II : ordre Pleurocapsales
- Groupe III : ordre Oscillatoriales
- Groupe IV : ordre Chroococcales
- Groupe V : ordre Stigonematales

Le plus courant est les cyanobacteries de groupe II, c'est à partir de ce groupe II que de nombreux morphogénèses à espèces endolithiques, tels que *Cyanosaccus* , *Hyella*, *Hormathonema* et *Solentia* ont été décrits (Ramírez-Reinat et Garcia-Pichel 2012a).

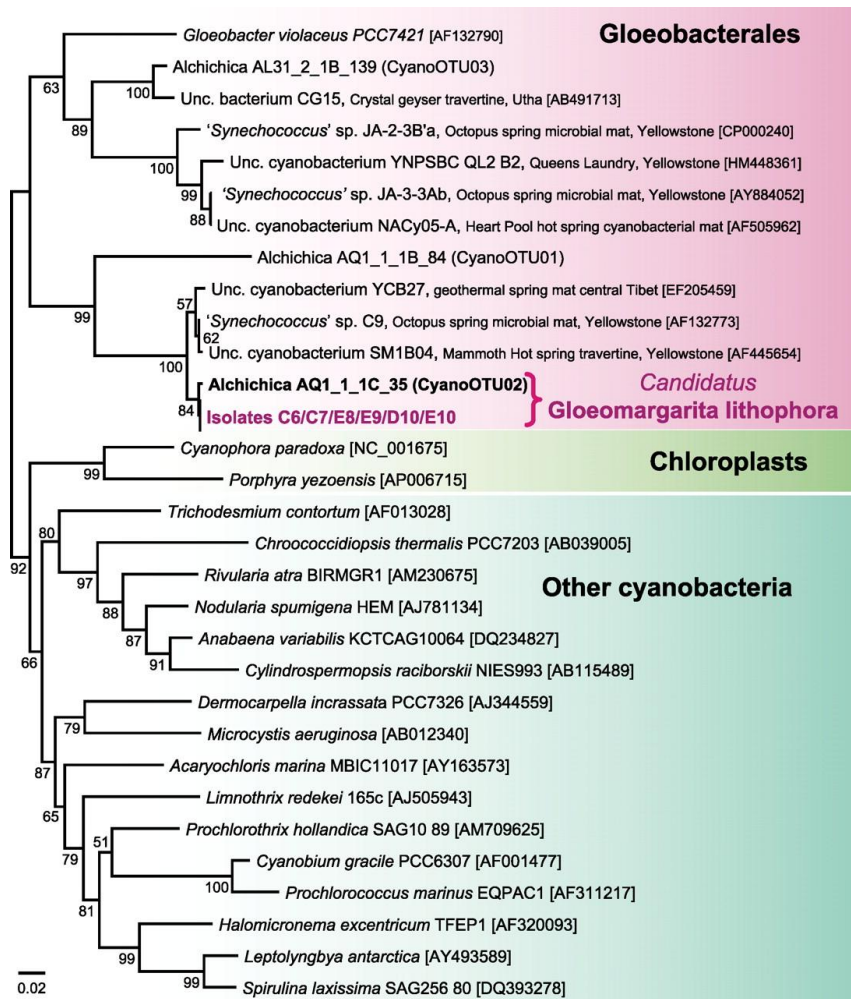


Figure 70: Arbre phylogénétique des cyanobacteries (Couradeau et al. 2012)

➤ Champignons

Les champignons sont un constituant important de l'assemblage microbien endolithique dans les écosystèmes marins (Vogel et al. 2007).

La zone aphotique, en dessous de 100 mètres, est dominée par les champignons (non photosynthétiques) (Golubic et al. 1975) où les niveaux de lumière empêchent ou limitent l'activité des phototrophes (Budd et Perkins 1980; Wisshak et al. 2005).

La distinction entre les forages des champignons endolithiques et les algues est souvent difficile en raison de la convergence des évolutions du comportement de l'activité endolithique (Golubic et al. 2005). Les champignons montrent une préférence pour proliférer au sein de la partie organique du substrat alors que les algues ont tendance à proliférer au sein de la partie minérale (Schneider et Sadler 1976).

Les champignons peuvent jouer un rôle dans la dissolution des minéraux communs, notamment des carbonates, des phosphates et des silicates, ainsi que des composés moins courants, tels que les oxydes et les oxalates (Gadd et Raven 2010; Bindschedler et al. 2016).

Les hyphes fongiques (=élément végétatif filamenteux, souvent à plusieurs noyaux cellulaires, caractéristique des champignons, de certaines algues et de certains protistes végétaux) produisent de fins forages de diamètre uniforme qui sont assez similaires à ceux produits par les filamenteuses cyanobactéries (Golubic et al. 2005). Dichotomiquement les ouvertures ramifiées et finement coniques sont couramment observées chez les champignons endolithiques mais pas chez les cyanobactéries et algues endolithiques.

Il a été observé que des lichens endolithiques (*L. cancriformis*) accumulaient des quantités substantielles de biominéraux riches en calcium (Ríos et al. 2005).

4.3.3. Mécanisme de forage

Les mécanismes de forage microbien ne sont pas encore bien compris et sont probablement différents pour des taxons différents.

Une étude a permis d'identifier plus de 22 types de forage différents sur cinq sites grâce à des moulages endolithes avec de la résine (Radtke 1993).

Les mécanismes possibles pour le forage cyanobactérien incluent la libération d'acide qui dissoudrait la roche ou la séquestration des ions calcium à l'aide d'une pompe à calcium, ce qui conduirait à la dissolution des carbonates de calcium. La dissolution fongique des minéraux se produit probablement par la production d'acide (Garcia-Pichel 2006).

Une étude de 1979 réalisée par Zeff Marjorie, a permis d'observer et de décrire avec précision plusieurs types de forages réalisés par les micro-organismes, dûs vraisemblablement à la recherche de source de nutriments (Zeff et Perkins 1979) :

- forages fongiques filamenteux (Variétés A, B, C, D, E)
- forages vermiculaires (d'origine fongique ou bactérienne)
- forages tubulaires (probablement d'origine fongique)
- forages subapiques, ramifiés de manière dichotomique (fongique)
- forages spinaux

➤ forages d'éponge

Il peut exister des inter-croisements complexes de plusieurs types de forages. Seules les formes vermiculaires, tubulaires et subapiques semblent être limitées au milieu marin profond.

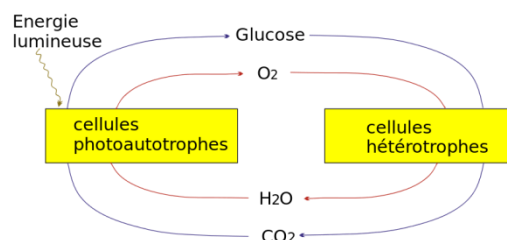
D'autres auteurs ont étudié les dents de poisson et ont caractérisé d'autres types de forage (Underwood et al. 1999).

Plusieurs modèles de forage de cyanobactéries ont été proposés, parmi lesquels des modèles basés sur la séparation temporelle ou spatiale de la photosynthèse et de la respiration, l'extrusion active d'ions calcium par un processus d'absorption et de transport cellulaire actif. Ce dernier semble être le plus approprié pour décrire et expliquer le phénomène de tunnélisation (Garcia-Pichel 2006).

Cho et Azam (1988) ont affirmé que les bactéries sont les principaux médiateurs de la décomposition de particule de matière organique (Cho et Azam 1988).

Comme suggéré par Martill (1989), il est probable que les forages endolithiques jouent un rôle important dans le cycle du phosphate marin, car ils relâchent le phosphate de vertébrés dans l'eau de mer (Martill 1989).

Les photoautotrophes assimilent le carbone oxydé obtenu de l'une des deux sources : dissous ou atmosphérique. Le mécanisme utilisé par les cyanobactéries euendolithiques pour extraire des carbonates solides suggère que les minéraux pourraient fournir directement du CO₂ pour l'autotrophie (= la production, par un organisme vivant, de matière organique par réduction de matière inorganique et matière minérale).



Suite à une étude, ils ont montré que les cyanobactéries tirent l'essentiel de leur carbone du minéral excavé en l'absence de CO₂ dissous. La principale source de carbone pour les communautés endolithiques est le carbonate local. Les communautés euendolithiques de

cyanobactéries fixent préférentiellement le carbone libéré lors de l'excavation de minéraux et que, sous la limitation de carbone inorganique dissous, les eudolithiques préfèrent la croissance endolithique à la croissance planctonique (Guida et al. 2017).

Le modèle physiologique actuel propose que la dissolution du carbone se produise via l'élimination du Ca^{2+} du front du forage, suivi du transport de cellule à cellule et de l'extrusion ionique éventuelle à la surface du substrat (Garcia-Pichel et al. 2010; Guida et Garcia-Pichel 2016). Au cours de ce processus, les protons sont contre-transportés vers le front de forage, une action qui aboutit probablement à la formation localisée de CO_2 dissous à partir de CO_3^{2-} libéré lors de la dissolution du carbonate dans l'espace interstitiel entre la cellule et le substrat minéral.

Il a été suggéré que certaines cyanobactéries euendolithes, différencient des cellules spécialisées appelées calcicytes (situées au niveau des zones apicales distales), qui accumulent le calcium permettant de maintenir des niveaux de Ca^{2+} interstitiel bas, ils servent de « condensateurs » ou dépôts pour le transport à longue distance de Ca^{2+} entre le minéral et le milieu extérieur (Guida et Garcia-Pichel 2016). Le transport à longue distance est basé sur le pompage actif de multiples cellules le long de filaments de forage, orchestré par la localisation préférentielle des ATPases de calcium au niveau d'un pôle cellulaire.

Des travaux utilisant une cyanobactérie euendolithique « BC008 », ont montré que cette cyanobactérie était capable de forer des carbonates solides en utilisant de la Ca^{2+} -ATPases pour absorber du Ca^{2+} favorisant la dissolution de CaCO_3 . Ils ont également montré que les cyanobactéries étaient phototrophes car elles avaient besoin de lumière pour provoquer la dissolution de calcite. En effet en présence de lumière, les échantillons testés présentaient une sursaturation en Ca^{2+} .

Les ions calcium sont préférentiellement importés par diffusion passive dans les cellules apicales situées à proximité du front de forage. Ceci abaisse la concentration de Ca^{2+} dans le microenvironnement interstitiel entre la surface de cette cellule apicale et le minéral solide, en dessous du produit de solubilité du minéral correspondant, déplaçant ainsi l'équilibre vers la dissolution. Cela permet à l'organisme de dissoudre sélectivement le substrat directement adjacent aux extrémités apicales des filaments ennuyeux et de se développer dans cette espace. Le calcium intracellulaire se déplace ensuite de cellule à cellule du front de forage vers la surface minérale, où il est activement pompé dans le milieu liquide par les cellules apicales distales (Guida et Garcia-Pichel 2016). L'excès de Ca^{2+} extrudé peut se disséminer

ou, dans certains cas, se reproduire dans une couche de micrite (Margolis et Rex 1971; Bathurst 2007).

Les protons constituent les contre-ions échangés contre du calcium pour maintenir la charge, sont contre transportés vers le front ennuyeux (Guida et Garcia-Pichel 2016).

Le pompage de Ca^{2+} se produit sur la longueur de chaque filament de forage en utilisant des pompes actives (Guida et Garcia-Pichel 2016).

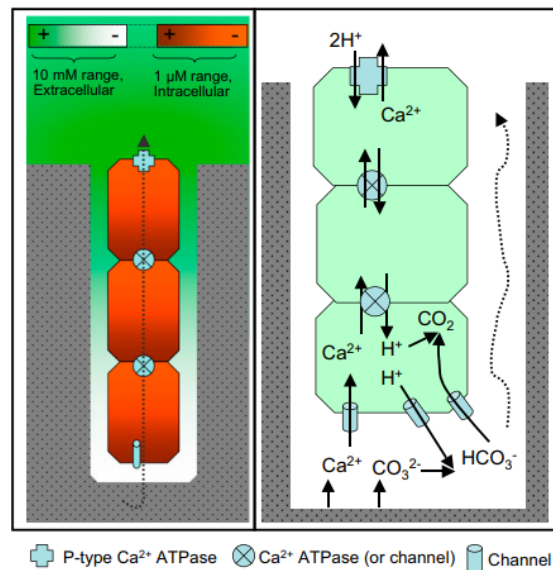


Figure 71: Modèle de travail pour l'excavation cyanobactérienne de carbonates de calcium (Garcia-Pichel et al. 2010)

Les ions carbonates libérés pourraient être (en partie) absorbés sous forme de bicarbonates, utilisés pour la photosynthèse et en partie se diffuser vers l'extérieur.

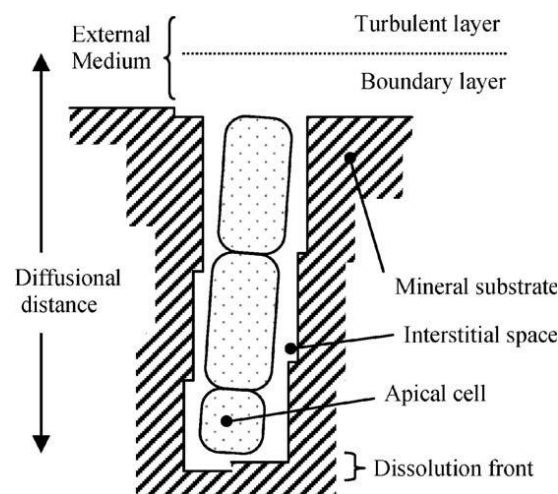


Figure 72: schéma d'une cyanobactérie (Garcia-Pichel 2006)

En tant que phototrophes oxygénés, les cyanobactéries ont tendance à alcaliniser leur environnement, ce qui favorise la précipitation des carbonates et non leur dissolution. Des études sur l'euendolithe filamenteuse *Mastigocoleus testarum*, ont montré que l'excavation nécessite à la fois de l'énergie cellulaire et un transport du calcium transcellulaire, médiés par des ATPases de type P, mais la base cellulaire de ce phénomène reste obscure (Guida et Garcia-Pichel 2016).

Suite à leurs passages, les micro-organismes forment des carbonates amorphes, ce processus se nomme la biominéralisation.

4.3.4. Biominéralisation

Des études ont récemment découvert que plusieurs espèces de cyanobactéries cultivées en laboratoire produisent des carbonates amorphes intracellulairement (Couradeau et al. 2012; Benzerara et al. 2014). Ils ont aussi mis en évidence que les diverses espèces formant des carbonates de calcium intracellulaires ont des besoins relativement élevés en calcium (Benzerara et al. 2014).

Dans la littérature, le terme "Stromatolites" est employé pour désigner des structures sédimentaire d'origine biologique; ils résultent du développement de tapis bactériens constitués essentiellement de cyanobactéries. Ces dernières sécrètent une gelée qui peut précipiter les bicarbonates, solubles, en carbonate de calcium, insolubles. Les Stromatolites pourraient être à l'origine de processus de fossilisation.

Le processus de biominéralisation fait référence aux processus par lesquels les organismes forment des minéraux qui sont dus à la précipitation bactérienne de carbonate de calcium.

Le terme biominéral désigne non seulement un minéral produit par des organismes, mais également le fait que la quasi-totalité de ces produits minéralisés sont des matériaux composites composés à la fois de composants minéraux et organiques (Weiner 2003).

Le calcium est le cation de choix (50 %) pour la plupart des organismes puis le phosphate (25 %) (Lowenstam et Weiner 1989).

La formation de biominéraux nécessite une zone localisée qui permet d'obtenir et de maintenir une sursaturation suffisante (Weiner 2003).

Cela peut être réalisé par deux mécanismes différents, soit une minéralisation biologiquement contrôlée ou induite (Mann 1995). Dans la minéralisation biologiquement contrôlée, les organismes, tels que les bactéries magnétotactiques, les diatomées et les coccolithophores, utilisent des voies métaboliques et génétiques spécifiques pour contrôler le processus (Bazylinski et Moskowitz 1997). Cependant, la précipitation de carbonate de calcium par les bactéries est généralement considérée comme une minéralisation induite, les types de minéraux produits dépendant des conditions environnementales (Brennan et al. 2004). D'autres auteurs ont suggéré d'autres mécanismes : une avec des inclusions de carbonate de calcium dispersées dans le cytoplasme cellulaire, dans laquelle des inclusions de carbonate de calcium se situent aux pôles des cellules, les inclusions étaient de tailles allant d'environ 100 à 800 nm de diamètre (Benzerara et al. 2014).

Ces inclusions étaient dans la plupart des cas composées de P comme élément majeur avec quelques Mg et K et parfois de Ca. Selon leur taille, leur composition chimique et leurs modes de distribution, ils ont été interprétés comme des granules de polyphosphate (PolyP), ces derniers constituent une forme de stockage du P pour les cellules ou une source d'énergie dans des conditions de stress ou limitées au P (Gomez-Garcia et al. 2013).

Le processus de précipitation du carbonate de calcium est généralement régi par quatre facteurs clés:

- 1) la concentration en calcium,
- 2) la concentration en carbone inorganique dissous,
- 3) le pH,
- 4) la disponibilité de sites de nucléation (De Muynck et al. 2010).

Les bactéries peuvent influencer sur les trois premiers facteurs, notamment la création d'un environnement alcalin.

Une étude antérieure a clairement montré que des espèces de bactéries isolées à partir de sédiments marins participent à la précipitation microbienne de carbonate de calcium par hydrolyse de l'urée. L'analyse minéralogique de la précipitation de carbonate de calcium induite montre que la calcite est le polymorphe principal du carbonate et que la morphologie des cristaux est principalement cubique et rhombique. Ces résultats suggèrent que la production de carbonate polymorphe n'est pas spécifiquement liée à une espèce bactérienne, mais est plutôt influencée par des facteurs environnementaux complexes tels que le pH et la composition du milieu (Wei et al. 2015).

– Minéralisation biologiquement induite (Weiner 2003) :

La précipitation secondaire de minéraux résultant d'interactions entre l'activité biologique et l'environnement est appelée minéralisation «d'origine biologique». Dans cette situation, les surfaces des cellules agissent souvent en tant qu'agents responsables de la nucléation et de la croissance minérale ultérieure.

Les surfaces biologiques jouent un rôle important au stade de l'induction, car la nucléation se produit souvent directement sur la paroi cellulaire, et les biominéraux résultants peuvent rester fermement attachés.

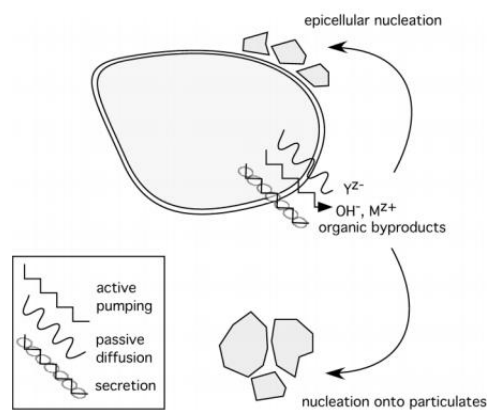


Figure 73: Schéma de la minéralisation induite biologiquement.

– Minéralisation intracellulaire biologiquement contrôlée :

Dans la minéralisation «biologiquement contrôlée», l'organisme utilise des activités cellulaires pour diriger la nucléation, la croissance, la morphologie et la localisation finale du minéral déposé.

La minéralisation se produit au sein de vésicules ou de vacuoles spécialisées qui dirigent la nucléation de biominéraux dans la cellule. Ces environnements de cristallisation compartimentés régissent la composition et la morphologie du biominéral. Les biominéraux peuvent se former de manière intracellulaire avant de devenir finalement extracellulaires. Ces structures peuvent quitter la cellule sous forme d'unités individuelles ou être pré-assemblées avant l'extrusion à travers la membrane. La libération de biominéraux vésiculaires peut également marquer le début d'un processus d'assemblage secondaire dans lequel les biominéraux interagissent avec une matrice organique extracellulaire (Figure 74a) pour devenir une structure extracellulaire ordonnée.

Toutes les structures minéralisées d'origine intracellulaire ne deviennent pas extracellulaires. La figure 74b montre que les vésicules contenant le biominéral peuvent se former au niveau intracellulaire et rester ensuite dans la cellule.

Les parois, ou frustrules, de diatomées sont le résultat de minéralisation intracellulaire.

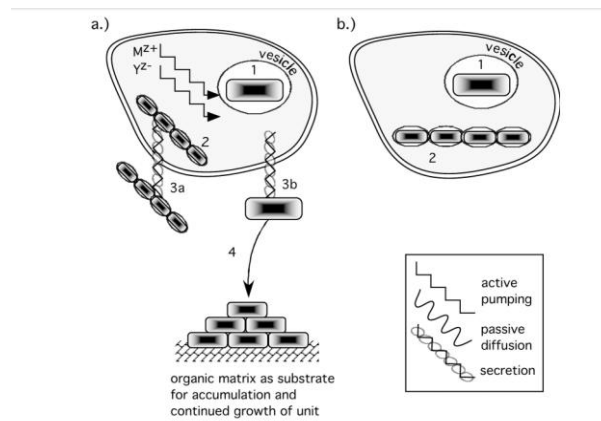


Figure 8. Schematics of biologically controlled intracellular mineralization shows that nucleation occurs within the cell in a specialized vesicle. a.) Biomineral is nucleated (1) within a compartment in the intracellular environment. These growth units may be assembled intracellularly (2) for subsequent secretion (3a) or secreted as an individual unit (3b) for subsequent organization into a higher order growth structures as a massive or organic-mineral composite. b.) In a less frequently used type of mineralization, the biomineral unit remains within the cell (1) as a single growth unit or is organized intracellularly (2) into a higher order structure.

Figure 74: Schéma de la minéralisation intracellulaire contrôlé biologiquement.

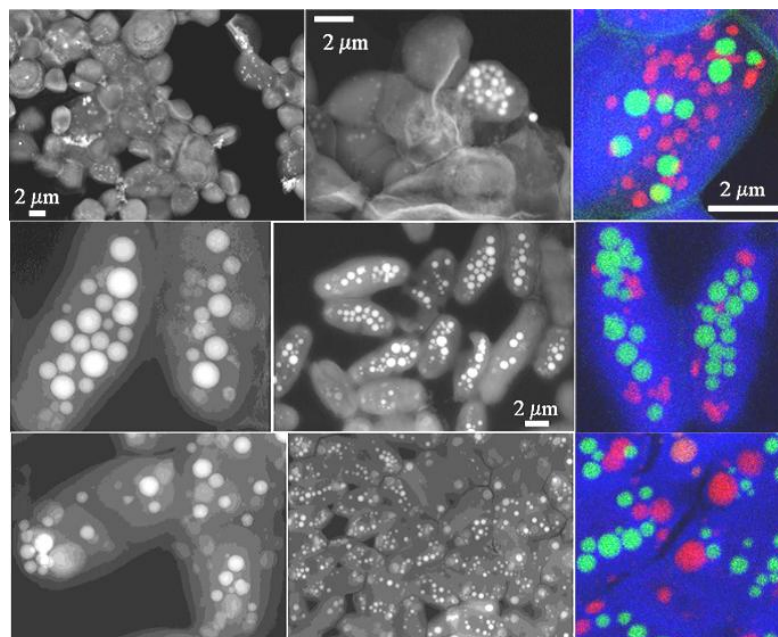


Figure 75: Images en microscopie électronique de cyanobactéries formant des carbonates intracellulaires dispersées dans les cellules (Benzerara et al. 2014)

Cette biominéralisation intracellulaire correspond à la formation de carbonate amorphe identifié au MEB.

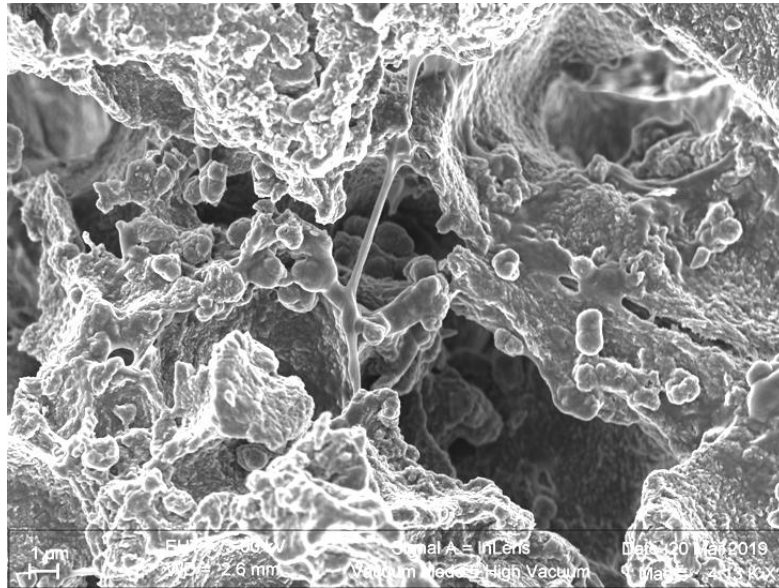


Figure 76: Image MEB montrant la formation de carbonate amorphe

Dans la littérature on retrouve cette biominéralisation sous le terme de micritisation :

L'idée que l'activité endolithique puisse détruire le tissu initial des dépôts tout en produisant des structures pouvant être préservées est illustrée par le développement des enveloppes micritiques, un cas particulier de micritisation des carbonates (Zeff et Perkins 1979). C'est Bathurst (1966) qui a présenté pour la première fois un modèle intégré pour la genèse des enveloppes de micrite. Les endolithes portaient à plusieurs reprises la périphérie de fragments squelettiques et les forages évacués étaient ensuite remplis d'aragonite micritique.

Les travaux d'Alexandersson (1972, 1974) sont particulièrement pertinents pour considérer la présence d'enveloppes de micrite dans les calcaires des profondeurs marines. Il a été constaté que, même si le degré de microbillage dans les mers chaudes et froides est le même, aucune précipitation de calcium le carbonate dans les sondages vidés s'est produit dans les eaux froides. En outre, les grains de carbonate de forage dans les eaux froides présentaient des signes de lixiviation. L'explication de ce phénomène a été considérée comme étant l'état de saturation en carbonates de l'eau de mer environnante. Dans les eaux froides sous-saturées, le mécanisme de remplissage de la formation de l'enveloppe micritique n'a pas lieu.

4.4. Interet médico-légale

La noyade ou submersion est très souvent accidentelle ou suicidaire. Elle résulte d'une inondation des voies aériennes par pénétration de liquide (nez ou bouche) qui provoque une asphyxie par défaut d'oxygénation des poumons, du sang et finalement des cellules irriguées par ce dernier. Le volume sanguin va rapidement diminuer par phénomène osmotique, les liquides plasmatiques se dirigeant vers l'alvéole, provoquant ainsi une hémococoncentration rapide avec notamment une élévation de la concentration ionique plasmatique (Beauthier et Hédouin 2015).

Certaines diatomées s'avèrent capables de pénétrer avec l'eau de mer dans les poumons et rejoindre la circulation sanguine. Si cette dernière est toujours présente, les diatomées vont être expédiées dans les organes bien vascularisés tels que le foie ou le rein. Des études ont recherché des diatomées au niveau de la pulpe dentaire, mais les résultats n'ont pas été concluants (Gourgues 2016). Cependant, lors de notre étude nous avons pu identifier un grand nombre de diatomée dans la vase recueillie mais aussi des les anfractuosités des sillons et des tunnelisations créées par les micro-organismes. Ces diatomées peuvent constituer des indices exploitables dans les situations de la découverte de dents isolées.

Les techniques d'estimation de l'âge par la translucidité radiculaire (due à l'oblitération des tubuli secondaires de la racine, modifiant ainsi la réfraction de la lumière) tel que la technique de Lamentin peuvent être compromises lorsque les dents sont immergées pendant une longue période du fait de l'aspect extérieur : opaque, grisâtre. Mais aussi par la tunnelisation des micro-organismes qui au long des années d'immersion peut entièrement détruire les racines et ne laisser que la couronne dentaire recouverte d'émail.

De plus, la méthode de Lamendin ne peut être utilisée dans des tranches d'âge jeune, l'équation utilisée comportant une constante égale à 25,5 ans qui implique que la valeur minimale de l'âge prédit lui sera forcément supérieure.

Nous n'avons pas observé de translucidité avec les dents sans préparation, en revanche elle est observable sur lame fine. De ce fait, il serait peut être plus judicieux d'utiliser la méthode de Lamendin avec une lame de dent au lieu d'une dent complète.

Il est difficile à ce stade de donner une estimation exacte du temps d'immersion avec comme seul élément une dent isolée car la profondeur de tunnelisation dentinaire est très fluctuante et disparate selon nos échantillons.

CONCLUSION

Le processus diagénétique en milieu aqueux des organes minéralisés tels que l'os et les dents, a été décrit dans plusieurs études précédentes. Ces organes, du fait de leur résistance à différentes conditions extrêmes telles que le feu, l'acidité ou l'immersion prolongée, sont souvent les dernières pièces retrouvées sur les cadavres et permettent à l'odontologiste medico-légal d'identifier les individus suite à des catastrophes de masse (inondations, crash aériens, terrorismes...).

Après immersion de 6 prémolaires pendant 12 mois à 545 mètres de profondeur à Banyuls-sur-Mer en Mer Méditerranée et analyse au microscope électronique et microsonde électronique, nous avons pu observer les modifications diagénétiques suivantes :

- Au niveau macroscopique : l'émail semble intact et les racines (cément) présentent une perte de translucidité avec un aspect opaque, grisâtre et poreux (problème pour l'identification par translucidité).
- Au niveau de la microscopie électronique : Altération de la structure de la dentine radulaire avec un aspect de tunnélisation par des micro-organismes s'étendant sur une surface comprise entre 100 μm et 750 μm (les tunnels ayant un diamètre de 4 à 6 μm). Des diatomées, coccolithes et foraminifères ont également été observés et identifiés.
- Au niveau de la microsonde électronique : Nous n'avons pas dégagé une tendance générale concernant les éléments phosphate et calcium, car les micro-organismes entraînent une déminéralisation localisée (tunnélisation) mais compensée par la biominéralisation (inclusions de carbonate de calcium) responsable de la stabilité du pool de calcium analysé à la microsonde. A contrario, les éléments chlore et sodium présentent une différence significative entre T0 et T1 dans le sens d'une augmentation des valeurs.

Les micro-organismes responsables de cette tunnélisation dentinaire ont été décrits dans la littérature comme étant des cyanobactéries endolithiques, qui présentent plusieurs types de forage, avec un mécanisme de tunnélisation faisant intervenir des pompes actives de calcium.

Il est difficile à ce jour, pour l'odontologiste médico-légale, de dater un corps immergé par la seule présence d'une dent isolée, du fait d'une inconstance des profondeurs de tunnélisation par les micro-organismes présents dans les milieux marins. Les résultats de notre étude doivent être comparés avec la diagenèse des dents en présence des tissus de soutien (lieu, période et profondeur identiques). En revanche, la richesse des éléments retenus dans les anfractuosités dentinaires, tel que les diatomées, permettent aux odontologistes médico-légaux de retracer le parcours des dents car elles sont spécifiques d'un milieu hydrique donné.

BIBLIOGRAPHIE

- A. van Daalen M, S. de Kat D, F.L. Oude Grotebevelsborg B, de Leeuwe R, Warnaar J, Oostra R-J, et al. An Aquatic Decomposition Scoring Method to Potentially Predict the Postmortem Submersion Interval of Bodies Recovered from the North Sea. *J Forensic Sci.* 2017;62:369-73.
- Abdallah M-N, Eimar H, Bassett D, Schnabel M, Ciobanu O, Nelea V, et al. Diagenesis-inspired Reaction of Magnesium Ions with Surface Enamel Mineral Modifies Properties of Human Teeth. *Acta Biomater.* 2016;37:174-83.
- Arnold WH, Gaengler P. Quantitative analysis of the calcium and phosphorus content of developing and permanent human teeth. *Ann Anat.* 2007;189(2):183-90.
- Bathurst R. Boring Algae, Micrite Envelopes and Lithification of Molluscan Biosparites. *Geological Journal.* 2007;5:15-32.
- Bazylnski DA, Moskowicz BM. Microbial biomineralization of magnetic iron minerals: microbiology, magnetism and environmental significance. *Rev Mineral Geochem.* 1997;35:217-23.
- Beauthier J-P, Hédouin P: V. *Traite de Medecine Legale.* 2e édition. Bruxelles: De Boeck; 2015.
- Benzerara K, Skouri-Panet F, Li J, Ferard C, Gugger M, Laurent T, et al. Intracellular Ca-carbonate biomineralization is widespread in cyanobacteria. *Proc Natl Acad Sci.* 2014;111:10933.
- Bequain JF, Boutonnet P. Sex determination using as criteria the root morphology maxillary of incisors and canines. *Rev Odontostomatol Midi Fr.* 1980;38(1):17-24.
- Bianchi C, Morri C. Marine Biodiversity of the Mediterranean Sea: Situation, Problems and Prospects for Future Research. *Mar pollut bull.* 2000;40:367-76.
- Bonneau E, Moreau R. Vaillant JM. *Notions de crâniométrie anthropologique.* Actual Odonto Stomatol. 1983;142:319-39.
- Boskey AL. Biomineralization: An Overview. *Connect Tissue Res.* 2003;44(1):5-9.
- Boudi R, Hammouti J, Mohtarim BE, Chhoul H. Les barotraumatismes dentaires à la plongée : du diagnostic au traitement. *Journal de Traumatologie du Sport.* 2017;34(1):70-5.
- Boudy C. Etude de la diagenèse des tissus dentaires immergés en milieu salin naturel: intérêt en odontologie médico-légale [Thèse d'exercice: Chirurgie dentaire]. [Paris]: Université Paris Diderot - Paris 7. Ufr d'Odontologie; 2018.
- Brennan S, Lowenstein T, Horita J. Seawater Chemistry and the Advent of Biocalcification. *Geology.* 2004;32(6):473-6.
- Brown C, Chenery S, Smith B, Roberts G, Sserunjogi L. A sampling and analytical methodology for dental trace element analysis. *Analyst.* 2002;127(2):319-23.
- Budd DA, Perkins RD. Bathymetric zonation and paleoecological significance of microborings in Puerto Rican shelf and slope sediments. *J Sediment Res.* 1980;50(3):881-903.
- Cazalbou S, Eichert D, Drouet C, Combes C, Rey C. Minéralisations biologiques à base de phosphate de calcium. *C R Palevol.* 2004;3(6):563-72.
- Chandra shekar BR, Reddy C. Role of dentist in person identification. *Indian J Dent Res.* 2009;20:356-60.
- Che L, Campion-Alsumard T, Boury-Esnault N, Payri C, Bézac C. Biodegradation of shells of the black pearl oyster, *Pinctada margaritifera* Var. *Cumingii*, by microborers and sponges of French Polynesia. *Mar Biol.* 1996;126:509-19.

- Cho BC, Azam F. Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior. *Nature*. 1988;332:441-3.
- Collins MJ, Riley MS, Child AM, Turner-Walker G. A Basic Mathematical Simulation of the Chemical Degradation of Ancient Collagen. *J Archaeol Sci*. 1995;22(2):175-83.
- Combes C, Cazalbou S, Rey C. Apatite Biominerals. *Minerals*. 2016;6:1-25.
- Couradeau E, Benzerara K, Gérard E, Moreira D, Bernard S, Brown G, et al. An Early-Branching Microbialite Cyanobacterium Forms Intracellular Carbonates. *Science (New York, NY)*. 2012;336:459-62.
- Couradeau E, Roush D, Guida BS, Garcia-Pichel F. Diversity and mineral substrate preference in endolithic microbial communities from marine intertidal outcrops (Isla de Mona, Puerto Rico). *Biogeosciences*. 2017;14(2):311-24.
- De Muynck W, De Belie N, Verstraete W. Microbial carbonate precipitation in construction materials: a review. *Ecol Eng*. 2010;36(2):118-36.
- Decobert M, Riaud X. *Odontologie médico-légale et Seconde Guerre mondiale*. Paris: L'Harmattan; 2016. (Médecine à travers les siècles).
- Denys C, Patou-Mathis M. *Manuel de taphonomie*. Arles: Editions Errance; 2014. (Archéologiques).
- Díaz-Castañeda V, Cox TE, Gazeau F, Fitzner S, Delille J, Alliouane S, et al. Ocean acidification affects calcareous tube growth in adults and reared offspring of serpulid polychaetes [Internet]. *The Journal of Experimental Biology*. 2019 [consulté le 1 juin 2019]. Disponible sur: <http://jeb.biologists.org/lookup/doi/10.1242/jeb.196543>
- Dirkmaat D, Cabo L, Ousley S, A Symes S. *New Perspectives in Forensic Anthropology*. *Am J Phys Anthropol*. 2008;51:33-52.
- Dumser TK, Türkay M. Postmortem Changes of Human Bodies on the Bathyal Sea Floor—Two Cases of Aircraft Accidents Above the Open Sea. *J Forensic Sci*. 2008;53(5):1049-52.
- El Boukhary, M. S.; Ruiz-Pino, D.; Béthoux, J. P. Is The Oxygen Decreasing In The Mediterranean Sea ? [Internet]. Harvard University. 2002 [consulté le 10 oct 2019]. Disponible sur: <http://adsabs.harvard.edu/abs/2002EGSGA..27.6463E>
- Emig CC, Geistdoerfer P. The Mediterranean deep-sea fauna: historical evolution, bathymetric variations and geographical changes. *Carnets Geol*. 2004;4(A01):1-10.
- Fabri M-C, Pedel L. Biocénoses des fonds durs du bathyal et de l'abyssal / SRM MO [Internet]. 2012 [consulté le 31 mai 2019]. Disponible sur: <https://archimer.ifremer.fr/doc/00230/34116/32573.pdf>
- Fernandez-Lopez S. Taphonomie et interprétation des paléoenvironnements. *Geobios Mem Spec*. 1995;28:137-54.
- Fourt, Goujard. Rapport final de la campagne MEDSEACAN (Têtes des canyons méditerranéens continentaux) novembre 2008 – avril 2010. Partenariat Agence des aires marines protégées – GIS Posidonie, GIS Posidonie publ. [Internet]. 2012 [consulté le 26 sept 2019]. Disponiblesur:ftp://ftpaamp.airesmarines.fr/MEDSEACAN/Rapport_Final_MEDSEACAN.pdf
- Furnestin J. Teneur en oxygène des eaux de la méditerranée occidentale (supplément à l'étude hydrologique de Juin-Juillet 1957). *Revue des Travaux de l'Institut des Pêches Maritimes*. 1960;24(4):453-80.
- Gadd G, Raven J. Geomicrobiology of Eukaryotic Microorganisms. *Geomicrobiol J*. 2010;27(6-7):491-519.

- Gängler P. *Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie: 66 Tabellen*. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2005.
- Garcia SD. *Les Hydroxyapatites, un système basique atypique modulable par la synthèse : vers l'identification des sites actifs [Thèse d'exercice: physique et chimie des matériaux]*. [Paris]: Université Pierre et Marie Curie; 2012.
- Garcia-Pichel F. Plausible mechanisms for the boring on carbonates by microbial phototrophs. *Sediment Geol.* 2006;185(3-4):205-13.
- Garcia-Pichel F, Ramírez-Reinat E, Gao Q. Microbial excavation of solid carbonates powered by P-type ATPase-mediated transcellular Ca²⁺ transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2010;107(50):21749-54.
- Gaudry E, Dourel L, Conigliaro A, Georget C, Desbrosse X, Hubac S. L'identification de victimes de catastrophe : une approche scientifique pluridisciplinaire. *Revue Francophone des Laboratoires.* 2017;2017(489):41-57.
- Georget C, Fronty P, Sapanet M. *L'identification comparative*. Poitiers: Atlantique; 2001.
- Georget C, Sapanet M, Fronty P, Collet G. *L'identification estimative : 2e partie, L'âge*. Poitiers: Atlantique; 2007. (Les cahiers d'odontologie médico-légale).
- Ghiglione JF, Mevel G, Pujon-Pay M, Mousseau L, Lebaron P, Goutx M. Diel and Seasonal Variations in Abundance, Activity, and Community Structure of Particle-Attached and Free-Living Bacteria in NW Mediterranean Sea. *Microb Ecol.* 2007;54(2):217-31.
- Ghiglione J-F, Palacios C, Marty J, Mével G, Labrune C, Conan P, et al. Role of environmental factors for the vertical distribution (0–1000 m) of marine bacterial communities in the NW Mediterranean Sea. *Biogeosci Discuss.* 2008;5(3):1751–1764.
- Goiubic S. Distribution, Taxonomy, and Boring Patterns of Marine Endolithic Algae. *Am Zool.* 1969;9(3):747-51.
- Goldberg. *Histologie de l'émail*. *Encycl Med Chir - Odontologie.* 2007;[22-007-A-10].
- Goldberg M. *Histologie des ciments : structures et ultrastructures*. *Encycl Med Chir - Odontologie.* 2015;[28-090-D-10].
- Golubic S, D. Perkins R, J. Lukas K. Boring Microorganisms and Microborings in Carbonate Substrates. In: *The Study of Trace Fossils: A Synthesis of Principles, Problems, and Procedures in Ichnology*. Berlin: springer-verlag; 1975. p. 229-59.
- Golubic S, Radtke G, Campion-Alsumard TL. Endolithic fungi in marine ecosystems. *Trends Microbiol.* 2005;13(5):229-35.
- Gomez-Garcia MR, Fazeli F, Grote A, Grossman AR, Bhaya D. Role of Polyphosphate in Thermophilic *Synechococcus* sp. from Microbial Mats. *J Bacteriol.* 2013;195(15):3309-19.
- Gourgues J. *Diatomées et odontologie légale : mise en place d'un protocole méthodologique pour l'étude de la diffusion passive des diatomées au niveau des dents au sein d'un milieu de culture [Thèse d'exercice: Chirurgie dentaire]*. [Bordeaux]: Université de Bordeaux; 2016.
- Grémare A, Amouroux JM, Vétion G. Long-term comparison of macrobenthos within the soft bottoms of the Bay of Banyuls-sur-mer (northwestern Mediterranean Sea). *J Sea Res.* 1998;40(3):281-302.
- Grunenwald A. *Etude de l'interaction entre ADN et apatite analogue au minéral osseux et dentaire : implications pour la préservation de l'ADN ancien, son extraction, son analyse [Thèse d'exercice: Sciences et génies des matériaux]*. [Toulouse]: Université de Toulouse; 2014.
- Gruner JW, McConnell D, Armstrong WD. The Relationship Between Crystal Structure and Chemical Composition of Enamel and Dentin. *J Biol Chem.* 1937;121(2):771-81.

- Guida B, Bose M, Garcia-Pichel F. Carbon fixation from mineral carbonates. *Nat Commun.* 2017;8(1):1-6.
- Guida BS, Garcia-Pichel F. Extreme cellular adaptations and cell differentiation required by a cyanobacterium for carbonate excavation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2016;113(20):5712-7.
- Gunepin M, Derache F, Zadik Y, Risso J-J, Blatteau J-E, Hugon M, et al. Prise en charge buccodentaire des plongeurs sous-marins. Importance du concept de « dentisterie de la plongée ». *Encycl Med Chir - Odontologie.* 2014;[23-850-A-80].
- Gutiérrez-Salazar M del P, Reyes-Gasga J. Microhardness and chemical composition of human tooth. *Mat Res.* 2003;6(3):367-73.
- Hasle GR, Syvertsen EE. Marine diatoms. In: *Identifying marine phytoplankton.* 1e éd. New York: Academic press; 1997. p. 660-70.
- Hassoun AER. Analyse et Modélisation de l'Acidification en Mer Méditerranée [Thèse: Océanologie]. [perpignan]: Perpignan via domitia; 2014.
- Hillson S. Biochemistry of dental tissues. In: *Dental Anthropology.* Londre: Cambridge University Press; 1996. p. 217-30.
- Hinchliffe J. Forensic odontology, Part 1. Dental identification. *Br Dent J.* 2011;210:219-24.
- Interpol. Identification des victimes de catastrophes (IVC) [Internet]. Interpol. 2019 [consulté le 18 sept 2019]. Disponible sur: <https://www.interpol.int/fr/Notre-action/Police-scientifique/Identification-des-victimes-de-catastrophes-IVC>
- Jadhav K, Gupta N, B. R Mujib A, Amberkar V. Effect of acid on teeth and its relevance in postmortem identification. *J Forensic Sci.* 2009;1:93-8.
- Jaeggi T, Lussi A. Prevalence, incidence and distribution of erosion. *Monogr Oral Sci.* 2006;20:44-65.
- Kaquelier JC, Décombas M, May OL. Structures bucco-dentaires en microscopie électronique à balayage. Paris: Masson; 1989.
- Karkhanis S, Ball J, Franklin D. Macroscopic and microscopic changes in incinerated deciduous teeth. *J Forensic Odontostomatol.* 2009;27(2):9-19.
- Keiser-Nielsen S. Dental identification: Certainty V Probability. *Forensic Sci.* 1977;9:87-97.
- Kidron G. Dew moisture regime of endolithic and epilithic lichens inhabiting calcareous cobbles and rock outcrops, Negev Desert, Israel. *Flora.* 2000;195(2):145-53.
- Klein B, Roether W, Manca BB, Bregant D, Beitzel V, Kovacevic V, et al. The large deep water transient in the Eastern Mediterranean. *Deep Sea Res Part 1 Oceanogr Res Pap.* 1999;46(3):371-414.
- Königshof P, Glaub I. Traces of microboring organisms in Palaeozoic conodont elements. *Geobios.* 2004;37(4):416-24.
- Krishan K, Kanchan T, Garg A. Dental Evidence in Forensic Identification – An Overview, Methodology and Present Status. *Open Dent J.* 2015;9:250-6.
- Kunin AA, Evdokimova AY, Moiseeva NS. Age-related differences of tooth enamel morphochemistry in health and dental caries. *EPMA J.* 2015;6(1):1-11.
- Laborier C, Danjard C, Rallon C. Odontologie médico-légale : Identification des personnes : des bases fondamentales aux experts de terrain. Rueil-Malmaison: Arnette; 2013. (Cdp).
- Langlois C. Diatomées [Internet]. 2006 [consulté le 15 juin 2019]. Disponible sur: http://step.ipgp.fr/images/a/a0/Langlois_biogeopal_TD5_FicheDiatomees.pdf

- Le Campion-Alsumard T, Golubic S, Hutchings P. Microbial endoliths in skeletons of live and dead corals: *Porites lobata* (Moorea, French Polynesia). *Mar Ecol Prog Ser.* 1995;117:149-57.
- Legros R, Balmain N, Bonel G. Age-related changes in mineral of rat and bovine cortical bone. *Calcif Tissue Int.* 1987;41(3):137-44.
- Liu H-Y, Chao J-H, Chuang C-Y, Chiu H-L, Yang C-W, Sun Y-C. Study of P, Ca, Sr, Ba and Pb Levels in Enamel and Dentine of Human Third Molars for Environmental and Archaeological Research. *Advances in Anthropology.* 2013;3:71-7.
- Lowenstam HA, Weiner S. *On Biomineralization.* New York: Oxford University Press USA; 1989.
- Marchal A. *L'odontologie médico-légale: la mort et l'identification [Thèse d'exercice: Chirurgie dentaire].* [Nancy]: Université Henri Poincaré-Nancy 1; 2010.
- Marchand E, Le Garff E, Mesli V, Hedouin V, Becart A, Gosset D. Étude préliminaire des modifications structurales post-mortem de la dentine radicaire : analyse au microscope électronique à balayage. *La Revue de Médecine Légale.* 2018;9(1):10-7.
- Margolis S, Rex RW. Endolithic Algae and Micrite Envelope Formation in Bahamian Oolites as Revealed by Scanning Electron Microscopy. *Geol soc amer bull.* 1971;82(4):843-52.
- Martill DM. Fungal Borings in Neoselachian Teeth from the Lower Oxford Clay of Peterborough. *Mercian Geol.* 1989;12(1):1-4.
- Matthes U, J. Turner S, Larson D. Light Attenuation by Limestone Rock and Its Constraint on the Depth Distribution of Endolithic Algae and Cyanobacteria. *Int J Plant Sci.* 2001;162:263-70.
- Mazza A, Merlati G, Savio C, Fassina G, Menghini P, Danesino P. Observations on dental structures when placed in contact with acids: experimental studies to aid identification processes. *J Forensic Sci.* 2005;50(2):406-10.
- McLoughlin N, Brasier MD, Wacey D, Green OR, Perry RS. On biogenicity criteria for endolithic microborings on early Earth and beyond. *Astrobiology.* 2007;7(1):10-26.
- Metzger Z, Buchner A, Gorsky M. Gustafson's Method for Age Determination from Teeth—A Modification for the Use of Dentists in Identification Teams. *J Forensic Sci.* 1980;25(4):742-9.
- Mével G, Vernet M, Goutx M, Ghiglione JF. Seasonal to hour variation scales in abundance and production of total and particle-attached bacteria in the open NW Mediterranean Sea (0–1000 m). *Biogeosciences.* 2008;5(6):1573-86.
- Montel G. Progres dans le domaine de la chimie des composés phosphorés solides à structure d'apatite. Application à la biologie et au traitement des minerais. *Pure appl chem.* 1980;52(4):973-87.
- Montoux M-L, Peyron P-A, Baccino E, Cathala P. L'expertise odontologique, évolution et perspectives après 13 ans d'activité au CHRU de Montpellier. À propos de 183 expertises. *La Revue de Médecine Légale.* 2013;4(4):175-81.
- Morley NH, Burton JD, Tankere SPC, Martin J-M. Distribution and behaviour of some dissolved trace metals in the western Mediterranean Sea. *Deep Sea Res Part 2 Top Stud Oceanogr.* 1997;44(3-4):675-91.
- Muller M, Berytrand MF, Quatrehomme G, Bolla M, Rocca JP. Macroscopic and microscopic aspects of incinerated teeth. *J Forensic Odontostomatol.* 1998;16(1):1-7.
- Nanci A. *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function.* 8e éd. Saint Louis: Mosby; 2012.
- Nganvongpanit K, Buddhachat K, Piboon P, Euppayo T, Mahakkanukrauh P. Variation in elemental composition of human teeth and its application for feasible species identification. *Forensic Sci Int.* 2017;271:33-42.

- Nossintchouk R. Manuel d'odontologie médico-légale. Paris: Elsevier Masson; 1997. (Manuels d'odontostomatologie).
- Offele D, Harbeck M, C Dobberstein R, Wurmb-Schwark N, Ritz-Timme S. Soft tissue removal by maceration and feeding of *Dermestes* sp.: Impact on morphological and biomolecular analyses of dental tissues in forensic medicine. *Int J Legal Med.* 2007;121:341-8.
- Palard M. Synthèse et frittage d'hydroxyapatites phosphocalciques silicatées [Thèse d'exercice: Chimie-Physique]. [Limoges]: Université de Limoges; 2007.
- Perry CT, Macdonald IA. Impacts of light penetration on the bathymetry of reef microboring communities: implications for the development of microendolithic trace assemblages. *Palaeo3.* 2002;186(1-2):101-13.
- Pfretzschner H-U. Fossilization of Haversian bone in aquatic environments. *C R Palevol.* 2004;3:605-16.
- Pohl W, Schneider J. Impact of endolithic biofilms on carbonate rock surfaces. *J Geol Soc, London.* 2002;205:177-94.
- Poole DFG, Tratman EK. Post-mortem changes in human teeth from late upper Palaeolithic/Mesolithic occupants of an English limestone cave. *Arch Oral Biol.* 1978;23(12):1115-20.
- Radtke G. The distribution of microborings in molluscan shells from recent reef environments at Lee Stocking Island, Bahamas. *Facies.* 1993;29(1):81-92.
- Ramírez-Reinat EL, Garcia-Pichel F. Prevalence of Ca²⁺-ATPase-Mediated Carbonate Dissolution among Cyanobacterial Euendoliths. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(1):7-13.
- Rey C, Combes C, Drouet C, Cazalbou S, Grossin D, Brouillet F, et al. Surface properties of biomimetic nanocrystalline apatites; Applications in biomaterials. *Prog Cryst Growth Charact Mater.* 2014;60:63-73.
- Ríos AD los, Sancho LG, Grube M, Wierzechos J, Ascaso C. Endolithic growth of two *Lecidea* lichens in granite from continental Antarctica detected by molecular and microscopy techniques. *New Phytol.* 2005;165(1):181-90.
- Schneider J, Torunski H. Biokarst on Limestone Coasts, Morphogenesis and Sediment Production. *Mar Ecol.* 1983;4(1):45-63.
- Shepherd JH. Calcium Phosphate Scaffolds for Bone Repair. *The journal of the Minerals.* 2011;63(4):83-92.
- Shepherd JH. Substituted Hydroxyapatites for Bone Repair. *J Mater Sci: Mater Med.* 2012;23(10):2335-47.
- Smits M, Gadd G. Mineral tunnelling by fungi. In: *Fungi in biogeochemical cycles.* Cambridge University Press. cambridge; 2006. p. 641-1002.
- Stjepko Golubic, Imre Friedmann, Ju. The Lithobiontic Ecological Niche, with Special Reference to Microorganisms. *J Sediment Res.* 1981;51(2):475-8.
- Turner-Walker G. The chemical and microbial degradation of bones and teeth. In: *Advances in human palaeopathology.* Hoboken: John Wiley & Sons; 2008. p. 3-29.
- Underwood CJ, Mitchell SF, Veltkamp CJ. Microborings in mid-Cretaceous fish teeth. *Proceedings of the Yorkshire Geological Society.* 1999;52(3):269-74.
- Vogel K, Gektidis M, Golubic S, E. Kiene W, Radtke G. Experimental studies on microbial bioerosion at Lee Stocking Island, Bahamas and One Tree Island, Great Barrier Reef, Australia: Implications for paleoecological reconstructions. *Lethaia.* 2007;33:190-204.

Wambeke F, Christaki U, Giannakourou A, Moutin T, Souvemerzoglou K. Longitudinal and Vertical Trends of Bacterial Limitation by Phosphorus and Carbon in the Mediterranean Sea. *Microb Ecol.* 2002;43(1):119-33.

Wei S, Cui H, Jiang Z, Liu H, He H, Fang N. Biomineralization processes of calcite induced by bacteria isolated from marine sediments. *Braz J Microbiol.* 2015;46(2):455-64.

Weiner S. An Overview of Biomineralization Processes and the Problem of the Vital Effect. *Rev Mineral Geochem.* 2003;54:1-29.

Wisshak M, Gektidis M, Freiwald A, Lundälv T. Bioerosion along a bathymetric gradient in a cold-temperate setting (Kosterfjord, SW Sweden): an experimental study. *Facies.* 2005;51(1-4):93-117.

Zadik Y, Drucker S. Diving dentistry: a review of the dental implications of scuba diving: Dental implications of scuba diving. *Aust Dent J.* 2011;56(3):265-71.

Zeff ML, Perkins RD. Microbial alteration of Bahamian deep-sea carbonates. *Sedimentology.* 1979;26(2):175-201.

Zenobio MAF, Nogueira MS, Zenobio EG. Chemical composition of human enamel and dentin. Preliminary results to determination of the effective atomic number. In: *Proceedings of IRPA12: 12 Congress of the International Radiation Protection Association: Strengthening Radiation Protection Worldwide - Highlights, Global Perspective and Future Trends.* buenos aires: IRPA; 2010.

**Les opinions émises dans les dissertations présentées doivent être
considérées comme propres à leurs auteurs, sans aucune approbation ni
improbation de la Faculté de Chirurgie Dentaire**

MASSOUS Sofiane. Étude de la diagenèse des tissus dentaires immergés en milieu naturel salin et hyperbare : processus de tunnélisation dentinaire par les micro-organismes. 2019. 142 p.: ill., graph., tabl. Réf. Biblio. : 129-135

**Sous la direction de: Mme la Professeure Laurence JORDAN
M. le Docteur Steve TOUPENAY**

Th : Chir Dent. : Paris 7 : 2019

RÉSUMÉ :

L'identification au moyen de la denture s'avère une méthode particulièrement fiable. En effet, l'organe dentaire, de part sa composition très minérale, présente une résistance à la quasi-totalité des agents extérieurs (sauf hautes températures et acides forts). Cependant, il peut subir des agressions de l'environnement et des éléments qui les entourent comme le feu, l'acidité, l'eau, l'air et la terre entraînent une modification morphologique appelée diagenèse (processus physiques, biochimiques et physico-chimiques qui conduisent les restes humains vers la fossilisation).

Le but de cette étude est de réaliser une analyse qualitative et quantitative des modifications diagénétiques provoquées par l'immersion des tissus dentaires dans un milieu salin et hyperbare (haute pression) après une durée de 12 mois. Le matériel biologique étudié est constitué de 12 dents saines, issues de 6 patients âgés de 12-13 ans, qui ont été réparties en deux groupes : l'un témoin et l'autre immergé à 545 m de profondeur dans le canyon de Banyuls sur Mer en Mer Méditerranée. Les échantillons ont été analysés au microscope électronique à balayage (MEB) et à la microsonde électronique.

Les résultats révèlent, d'une part, la formation de galeries (processus de tunnélisation) au sein de la dentine par des micro-organismes, et d'autre part, la présence d'un processus de biominéralisation (formation de minéraux par les organismes due à la précipitation bactérienne de carbonate de calcium).

TITRE en anglais : Study of the diagenesis of immersed dental tissues in saline and hyperbaric natural environment: Process of dentin tunneling by microorganisms.

DISCIPLINE : Odontologie médico-légale

MOTS-CLES Français : Odontologie légale (FMeSH); dent (FMeSH); immersion (FMeSH); cyanobactéries (FMeSH); biomineralisation (FMeSH); océans et mers (FMeSH); diagenèse.

MOTS-CLES Anglais : Forensic dentistry (MeSH); tooth (MeSH); immersion (MeSH); cyanobacteria (MeSH); biomineralization (MeSH); oceans and seas (MeSH); diagenesis.
