



**HAL**  
open science

# Distinction entre processus pathologique de type hypominéralisation molaire-incisive et processus taphonomique par différentes méthodes de micro-analyse de l'émail dentaire

Elsa Garot

► **To cite this version:**

Elsa Garot. Distinction entre processus pathologique de type hypominéralisation molaire-incisive et processus taphonomique par différentes méthodes de micro-analyse de l'émail dentaire. Anthropologie biologique. Université de Bordeaux, 2017. Français. NNT : 2017BORD0791 . tel-01712004

**HAL Id: tel-01712004**

**<https://theses.hal.science/tel-01712004>**

Submitted on 19 Feb 2018

**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.

THÈSE PRÉSENTÉE  
POUR OBTENIR LE GRADE DE  
**DOCTEUR DE**  
**L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX**

ÉCOLE DOCTORALE SCIENCES ET ENVIRONNEMENTS

SPÉCIALITÉ ANTHROPOLOGIE BIOLOGIQUE

Par Elsa GAROT

**DISTINCTION ENTRE PROCESSUS PATHOLOGIQUE  
DE TYPE HYPOMINÉRALISATION MOLLAIRE-INCISIVE  
ET PROCESSUS TAPHONOMIQUE PAR DIFFÉRENTES  
MÉTHODES DE MICRO-ANALYSE DE L'ÉMAIL DENTAIRE**

Sous la direction de : Patrick ROUAS

Soutenue le 24 Novembre 2017

Membres du jury :

Mme BOILEAU Marie-José, Professeur, Université de Bordeaux	Examineur
Mme COUTURE-VESCHAMBRE Christine, Maître de conférences, Université de Bordeaux	Examineur
M. MACCHIARELLI Roberto, Professeur, Université de Poitiers	Rapporteur
M. MANTON David John, Professeur, Université de Melbourne (Australie)	Examineur
Mme MULLER-BOLLA Michèle, Professeur, Université de Nice Sophia Antipolis	Rapporteur
M. ROUAS Patrick, Maître de conférences, Université de Bordeaux	Directeur
M. SIGNOLI Michel, Directeur de Recherche, CNRS, UMR 7268, Marseille	Président



## **Distinction entre processus pathologique de type hypominéralisation molaire-incisive et processus taphonomique par différentes méthodes de micro-analyse de l'émail dentaire**

Les diagnostics d'hypominéralisations molaire-incisive (HMI) et de colorations *post-mortem* de l'émail sont peu fiables et reproductibles dans des séries archéologiques. Notre guide de diagnostic a permis de distinguer les hypominéralisations de l'émail des colorations taphonomiques. L'émail hypominéralisé est caractérisé par des taux de  $\beta$ -carbonate plus élevés et une densité minérale plus faible. Les colorations taphonomiques présentent une concentration plus élevée en manganèse, en fer, en cuivre et en plomb, mises en évidence par des analyses en fluorescence X. Les dentures d'individus immatures issus de 21 séries archéologiques ont été examinées et comprenaient : **4 séries françaises**, Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais), Cognac-Saint-Martin (Charente), Beauvais (Oise) et Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde) provenant de cimetières médiévaux et post-médiévaux et **17 séries anglaises** (Londres) provenant de cimetières romains, médiévaux et post-médiévaux. Nous avons dénombré 555 individus dont l'âge au décès est compris entre 5 et 19 ans et dont la datation chronologique s'étale sur une période allant du **1<sup>er</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle**. Au total, sur les 290 individus avec au moins une première molaire permanente (PMP) présente, 42 avaient au moins une opacité délimitée de l'émail sur une PMP (soit 14,5%). Parmi les 17 individus dont les dents ont été analysées, les tests statistiques n'ont mis en évidence que 9 cas de HMI, soit 52,9% de l'effectif. Une prévalence de 9,3% de HMI a été estimée dans nos séries archéologiques ce qui avoisine les prévalences connues à l'heure actuelle dans les populations du vivant en Europe. Les défauts du développement de l'émail sont souvent utilisés comme indicateurs de la santé générale dans les populations archéologiques passées. La possibilité de trouver des HMI dans des populations anciennes minimise l'importance de certaines hypothèses étiologiques contemporaines (par exemple les dérivés de dioxines, les bisphénols ou les antibiotiques) sans exclure l'aspect multifactoriel possible de l'anomalie.

Mots clés : hypominéralisation, émail, MIH, population du passé, coloration taphonomique, état sanitaire

---

## **Distinction between demarcated hypomineralised lesions of enamel and taphonomic staining by means of enamel microanalyses**

Developmental enamel defects are often used as indicators of general health in past archaeological populations. It can be difficult to macroscopically distinguish subtle hypomineralised enamel opacities such as Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) from *post-mortem* staining. The diagnostic guide developed enables the differentiation of developmental hypomineralisation of enamel from taphonomic discolorations. Hypomineralised enamel had higher  $\beta$ -carbonate rates and lower mineral density. Taphonomic discoloration had higher concentration of manganese, iron, copper and lead, determined by means of X-ray fluorescence analyses. Sub adults from 21 archaeological series were examined and included: **4 French series**, Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais), Cognac-Saint-Martin (Charente), Beauvais (Oise) and Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde) from medieval and post-medieval cemeteries and **17 English series** (London) from Roman, medieval and post-medieval cemeteries. We recorded 555 individuals aged between 5-19 years dating from **1<sup>st</sup> to 19<sup>th</sup> century**. Among 290 specimens with at least one first permanent molar (FPM) present, 42 showed at least one FPM opacity (14.5%). Among the 17 individuals whose teeth were analysed, statistics highlighted 9 cases of MIH (52.9%). MIH prevalence of 9.3% was estimated among the archaeological series which is close to prevalence in living populations in Europe. The identification of MIH among past populations downplays contemporary aetiological hypotheses (e.g. dioxins, bisphenols, antibiotics) without excluding multifactorial aetiology of this pathology.

Key words: enamel, hypomineralisation, MIH, past populations, taphonomic discoloration, health status

**PACEA, UMR 5199, Université de Bordeaux, Bâtiment B8,  
allée Geoffroy Saint-Hilaire, 33615 Pessac cedex, France**



# Remerciements

---

Je tiens en premier lieu à adresser mes remerciements à l'ensemble des membres du jury qui me font l'honneur de juger ce travail. Je remercie tout particulièrement M<sup>me</sup> **Michèle Muller-Bolla** (Université de Nice Sophia Antipolis) et M. **Roberto Macchiarelli** (Université de Poitiers) d'avoir accepté d'être les rapporteurs de cette thèse. Je remercie également M<sup>me</sup> **Christine Couture-Veschambre** et M<sup>me</sup> **Marie-José Boileau** (Université de Bordeaux) d'avoir accepté d'en être les examinateurs ainsi que M. **Michel Signoli** (UMR 7268, Marseille) et M. **David John Manton** (Université de Melbourne) pour leurs participations à ce jury.

Je tiens à remercier très sincèrement M. **Patrick Rouas** (Université de Bordeaux) qui a pris part à mes études depuis le commencement, dans un premier temps en dirigeant ma thèse de Doctorat en chirurgie-dentaire, déjà sur la thématique des hypominéralisations molaires incisives, puis en encadrant mon mémoire de Master recherche et enfin en prenant la direction de ce travail.

Je remercie chaleureusement M<sup>me</sup> **Christine Couture-Veschambre** de son intérêt pour ce travail. Je la remercie également pour sa grande disponibilité et ses nombreux conseils durant la rédaction de ma thèse. Son soutien va bien au-delà de cette thèse et je lui en suis reconnaissante. Ses qualités humaines et ses enseignements dans le cadre du master Biogéosciences m'ont permis de découvrir une véritable passion pour l'anthropologie biologique et en particulier pour l'évolution des populations humaines.

Je remercie M. **David John Manton** qui a permis de donner à nos projets une dimension internationale. Le projet « HEAT » financé suite à l'appel à projet PRC CNRS/Université de Melbourne nous a permis de travailler ensemble au laboratoire PACEA pendant 3 mois. Ses conseils objectifs et notre collaboration m'ont toujours été bénéfiques tant sur le plan scientifique que sur le plan humain. J'espère avoir la chance de pouvoir la poursuivre dans l'avenir.

Cette thèse a bénéficié de moyens financiers et matériels grâce à l'obtention d'une subvention de laboratoire (projet PASTMIH) après réponse à un appel à projet de l'**Institut Français de la Recherche en Odontologie (IFRO)**.

Je remercie M. **Jean-François Peli** et M<sup>me</sup> **Caroline Bertrand** (respectivement ancien Doyen et Doyenne de l'UFR d'Odontologie de Bordeaux) et M<sup>me</sup> **Véronique Dupuis** (Chef du Pôle d'Odontologie et de Santé de Bordeaux) qui m'ont permis d'aménager mon emploi du temps d'Assistante Hospitalo-Universitaire afin que je puisse disposer du temps nécessaire à l'élaboration de ce travail. Je remercie également tous les membres de la sous-section d'odontologie pédiatrique qui m'ont accueilli avec bienveillance.

Cette thèse n'aurait pas pu être réalisée au sein du laboratoire PACEA sans la bienveillance de M. **Bruno Maureille**, précédent Directeur de l'UMR, en poste lorsque j'ai commencé mon doctorat et de sa Directrice M<sup>me</sup> **Anne Delagnes**.

Je remercie également M. **Richard Michalet** et M. **Frédéric Garabetian**, respectivement ancien et actuel directeurs de l'École Doctorale Sciences et Environnement m'ayant permis de m'inscrire et de soutenir cette thèse. J'adresse également mes remerciements à M<sup>me</sup> **Brigitte Bordes** qui s'est toujours montrée disponible et avec laquelle j'ai partagé quelques cours dans le cadre du master.

Dans le cadre de mon Master et de mon Doctorat, j'ai pu bénéficier d'échanges toujours très enrichissants avec certains membres du laboratoire PACEA (Université de Bordeaux, UMR5199) qui m'ont permis de mener à bien mes projets.

Je remercie M. **Pascal Murail** qui participa à mon jury de thèse de Doctorat en Chirurgie-dentaire et dont les commentaires ont été d'une grande aide pour rédiger la discussion de cette thèse universitaire.

Je remercie également M<sup>me</sup> **Anne-Marie Tillier** (DR émérite, CNRS, UMR 5199) qui a toujours eu quelques mots d'encouragements lors de mon Doctorat. Son influence ne s'est pas limitée à ces quelques échanges car c'est à travers notamment la direction de thèse d'Université de M. Patrick Rouas que j'ai pu bénéficier de la rigueur scientifique qu'elle a su transmettre et qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je tenais également à remercier M. **Frédéric Santos** (IE en statistique, CNRS) pour sa disponibilité, son implication dans le travail statistique de cette thèse, ainsi que pour ses enseignements dont j'ai pu bénéficier dans le cadre du Master Recherche Biogéosciences. Mes

remerciements vont également à M<sup>me</sup> **Maryelle Bessou** (ITRF, Université de Bordeaux) pour sa gentillesse, sa disponibilité et pour l'intérêt dont elle a témoigné pour nos projets, ainsi qu'à tous les **doctorants** de l'UMR 5199 qui ont contribué d'une manière ou d'une autre à ce travail.

Ce travail n'aurait jamais pu voir le jour sans la bienveillance des différents chercheurs français et étrangers qui m'ont permis l'accès aux collections archéologiques qui ont constitué le matériel d'étude. Je tiens notamment à remercier M. **Cédric Beauval** (Archéosphère) M<sup>me</sup> **Dominique Castex** (DR, CNRS, UMR 5199), M. **Patrice Courtaud** (DR, CNRS, UMR 5199), M<sup>me</sup> **Anne-Marie Tillier**, Mme **Jelena Beklavac** (*Museum* de Londres) et M<sup>me</sup> **Rebecca Redfern** (*Museum* de Londres). Je tiens à remercier plus spécifiquement M. **Patrice Courtaud** qui m'a également accueilli sur le terrain et m'a permis de trouver ma première dent humaine dans le cadre du programme de fouille de la grotte Mykolas.

Un grand merci également à toutes les personnes avec lesquelles nous avons eu la chance de collaborer dans le cadre de ce travail M. **Ronan Ledevin** (ITA, Université de Bordeaux), M. **Yannick Lefrais** (IE, IRAMAT-CRP2A), M. **Nicolas Lenoir** et M. **Vincent Rodriguez** (PU, Université de Bordeaux, UMR 5255).



*A ma famille et à mes amis.*



# Tables des matières

---

TABLES DES MATIERES .....	11
LISTE DES TABLEAUX .....	19
LISTE DES FIGURES .....	23
LISTE DES ANNEXES .....	33
LISTE DES ABREVIATIONS.....	35
<b>Introduction .....</b>	<b>37</b>
<b>Chapitre 1 Problématique et objectifs.....</b>	<b>43</b>
<b>Chapitre 2 État de l’art : émail et hypominéralisations .....</b>	<b>47</b>
1. ÉMAIL DENTAIRE HUMAIN .....	51
1.1. Formation de l’émail dentaire humain .....	51
1.2. Structure et composition de l’émail dentaire humain .....	54
1.2.1. Aspect macroscopique de l’émail dentaire humain.....	55
1.2.2. Aspect microscopique de l’émail dentaire humain .....	55
1.2.3. Composition de l’émail dentaire humain .....	56
1.2.3.1. Phase minérale (96%).....	57
1.2.3.2. Eau libre et eau liée (3%) .....	58
1.2.3.3. Phase organique (1%).....	58
2. LES HYPOMINERALISATIONS DE L’EMAIL : REVUE CRITIQUE DE LA LITTERATURE .....	60
2.1. Terminologie .....	60
2.2. Caractéristiques cliniques des HMI.....	62
2.2.1. Critères de diagnostic .....	62
2.2.2. Critères de sévérité .....	63
2.2.3. Répartition des défauts sur la surface des dents.....	65
2.3. Caractéristiques anatomopathologiques des HMI.....	65
2.4. Prévalence des HMI.....	71
2.5. Les hypothèses étiologiques des HMI .....	73
2.5.1. Période pré-natale.....	73
2.5.1.1. Maladies maternelles.....	73
2.5.1.2. Thérapeutiques médicamenteuses maternelles.....	74
2.5.1.3. Tabagisme maternel .....	74

2.5.1.4. Stress .....	74
2.5.2. Période péri-natale.....	74
2.5.3. Période post-natale .....	75
2.5.3.1. Perturbateurs endocriniens .....	75
2.5.3.2. Médication.....	77
2.5.3.3. Maladies de la petite enfance .....	77
2.5.3.4. Pathologies générales et troubles métaboliques .....	78
2.5.3.5. Génétique et épigénétique .....	78
2.6. <i>Les diagnostics différentiels ante-mortem des HMI</i> .....	79
2.6.1. Colorations de l'émail défectueux et propriétés optiques .....	80
2.6.2. Facteurs intrinsèques .....	81
2.6.3. Facteurs extrinsèques .....	87
2.6.4. Colorations internes.....	87
2.7. <i>Les HMI dans les populations du passé</i> .....	88
3. LES COLORATIONS TAPHONOMIQUES : REVUE CRITIQUE DE LA LITTÉRATURE .....	91
3.1. <i>Facteurs biologiques</i> .....	91
3.2. <i>Facteurs non-biologiques</i> .....	92

## **Chapitre 3 Matériel.....97**

1. ÉCHANTILLON ISSU DU VIVANT .....	101
1.1. <i>Recueil des dents</i> .....	101
1.1.1. Échantillon français.....	101
1.1.2. Échantillon australien.....	102
1.2. <i>Synthèse des informations relatives à l'échantillon issu du vivant</i> .....	102
2. ÉCHANTILLON HISTORIQUE .....	103
2.1. <i>Présentation des séries</i> .....	104
2.1.1. Sains-en-Gohelle .....	104
2.1.2. Beauvais .....	106
2.1.3. Cognac Saint-Martin .....	106
2.1.4. Jau-Dignac-et-Loirac.....	107
2.1.5. Cimetières londoniens médiévaux .....	107
2.1.5.1. Guildhall Yard (code GYE92) .....	108
2.1.5.2. Dominican Friary Carter Lane (code PIC87).....	109
2.1.5.3. East Smithfield Black Death (code MIN86a) .....	110

2.1.5.4. Merton Priory (code MPY86) .....	110
2.1.5.5. S <sup>t</sup> Benet Sherehog (code ONE94) .....	110
2.1.5.6. S <sup>te</sup> Mary Grace (code MIN86b).....	111
2.1.5.7. Spital Square (code NRT 85) .....	111
2.1.6. Cimetières londoniens post-médiévaux .....	111
2.1.6.1. Chelsea Old Church (code OCU00).....	112
2.1.6.2. S <sup>t</sup> Benet Sherehog (code ONE94) .....	112
2.1.6.3. S <sup>t</sup> Brides Lower (code FAO90).....	113
2.1.6.4. Broadgate (code LSS85) .....	113
2.1.6.5. Cross bones (code REW92) .....	113
2.1.6.6. S <sup>t</sup> Thomas' Hospital (code NLB91).....	114
2.1.7. Cimetières Romains (Londinium).....	114
2.1.7.1. Cimetière romain Ouest .....	114
2.1.7.2. Cimetière Romain Sud .....	115
2.2. Synthèse de la distribution des individus âgés de 5 à 19 ans en fonction des séries .....	115

## **Chapitre 4 Méthodes ..... 117**

1. EXAMEN VISUEL .....	121
1.1. Échantillon issu du vivant .....	121
1.2. Échantillon historique.....	121
1.3. Critères enregistrés.....	122
1.3.1. Opacité délimitée de l'email .....	122
1.3.1.1. Couleur de l'opacité .....	122
1.3.1.2. Surface impliquée.....	122
1.3.1.3. Localisation sur la surface.....	123
1.3.1.4. Étendue de l'opacité .....	123
1.3.2. Fracture post-éruptive de l'email .....	123
1.3.3. Restauration atypique.....	123
1.3.4. Opacité diffuse de l'email .....	123
1.3.4. Hypoplasie de l'email.....	123
1.3.5. Perte ante-mortem .....	124
1.3.6. Lésions carieuses.....	124
1.3.7. Exemple de cotation des données.....	125

2. EXAMEN PHOTOGRAPHIQUE .....	127
3. EXAMEN EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE.....	128
3.1. <i>Acquisition des données</i> .....	128
3.1.1. Principe de fonctionnement.....	128
3.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons .....	130
3.2. <i>Traitement des données</i> .....	132
3.3. <i>Analyses des données</i> .....	132
4. EXAMEN EN MICROTOMOGRAPHIE.....	133
4.1. <i>Acquisition des données</i> .....	133
4.1.1. Principe de fonctionnement.....	133
4.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons .....	134
4.2. <i>Traitement des données</i> .....	134
4.2.1. Recadrage et réorientation des coupes .....	134
4.2.2. Enregistrement des coupes en 2D .....	134
4.3. <i>Analyses des données</i> .....	135
4.3.1. Mesures 2D .....	135
4.3.2. Mesures 3D .....	136
5. EXAMEN EN SPECTROSCOPIE RAMAN .....	137
5.1. <i>Acquisition des données</i> .....	137
5.1.1. Principe de fonctionnement.....	137
5.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons .....	138
5.2. <i>Traitement des données</i> .....	139
5.3. <i>Analyses des données</i> .....	140
6. EXAMEN EN FLUORESCENCE X.....	141
6.1. <i>Acquisition des données</i> .....	141
6.1.1. Principe de fonctionnement.....	141
6.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons .....	142
6.2. <i>Traitement des données</i> .....	143
6.3. <i>Analyses des données</i> .....	143
7. STATISTIQUES.....	144
7.1. <i>Évaluation de la reproductibilité et de la fiabilité des mesures effectuées</i> .....	144
7.1.1. Tests inter- et intra-observateurs .....	144
7.1.2. Critères de diagnostic des HMI dans les populations du vivant .....	144

7.1.3. Critères de diagnostic des HMI et des colorations taphonomiques dans les populations du passé.....	145
7.2. <i>Statistiques descriptives</i> .....	145
7.3. <i>Statistiques analytiques</i> .....	146
7.3.1. Test de normalité.....	146
7.3.2. Tests de comparaison de variables .....	146
7.3.3. Logiciels de statistiques .....	146

## **Chapitre 5 Résultats..... 149**

1. DONNEES MACROSCOPIQUES ISSUES DES DENTS ACTUELLES .....	151
1.1. <i>Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI (population du vivant)</i> .....	151
1.2. <i>Fréquence et distributions des différentes opacités de l'émail (blanche, beige et jaune-brune)</i> .....	151
1.3. <i>Localisations des opacités délimitées de l'émail</i> .....	152
2. DONNEES MACROSCOPIQUES ISSUES DES SERIES ARCHEOLOGIQUES .....	154
2.1. <i>Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI (population du passé)</i> .....	154
2.2. <i>Données issues de la série de Sains-en-Gohelle</i> .....	154
2.3. <i>Données issues de la série de Cognac Saint-Martin</i> .....	156
2.4. <i>Données issues la série de Beauvais</i> .....	157
2.5. <i>Synthèse des données issues des séries archéologiques françaises</i> .....	158
2.6. <i>Données issues des séries du Museum de Londres</i> .....	159
2.6.1. Série LSS85 .....	161
2.6.2 Série NRT85.....	161
2.6.3. Série FAO90.....	162
2.6.4. Série ONE94 .....	162
2.6.5. Série MIN86b.....	163
2.6.6. Série ATC97.....	163
2.6.7. Série MPY86 .....	164
2.6.8. Série MIN86a .....	165
2.6.9. Série NLB91 .....	166
2.6.10. Série PIC87 .....	166
2.6.11. Série GDV96 .....	167
2.6.12. Série LTU3 .....	167
2.6.13. Série GYE92 .....	167

2.6.14. Série OCU00 .....	168
2.6.15. Série REW92.....	168
2.7. Données issues de l'échantillon « taphonomique » de Jau-Dignac.....	169
2.8. Synthèse des données des séries archéologiques .....	170
3. REEXAMEN DE LA SERIE DE BROADGATE .....	175
4. CARACTERISATION DE L'EMAIL HYPOMINERALISE (HMI).....	180
4.1. Données issues du MEB-EDX.....	180
4.2. Données issues de la Spectroscopie RAMAN.....	185
4.2.1. Données qualitatives .....	185
4.2.2. Données quantitatives .....	186
4.3. Données issues de la microtomographie.....	187
4.3.1. Données en 2D .....	187
4.3.2. Données en 3D .....	191
4.4. Données issues de la fluorescence X.....	192
5. CARACTERISATION DE L'EMAIL COLORE PAR TAPHONOMIE.....	196
5.1. Données issues de la fluorescence X.....	196
5.2. Données issues de la spectroscopie Raman .....	198
5.3. Données issues de la microtomographie.....	199
5.3.1. Données en 2D .....	199
5.3.2. Données en 3D .....	200
6. ÉLABORATION D'UN GUIDE DE DIAGNOSTIC .....	202
6.1. Première étape : acquisition des données.....	203
6.2. Deuxième étape : analyses statistiques .....	204
6.3. Troisième étape : Diagnostic final.....	205
6.4. Article "Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context" Garot E, Couture-Veschambre C, Manton D, Rodriguez V, Lefrais Y, Rouas P.....	205
7. APPLICATIONS DU GUIDE DE DIAGNOSTIC A UN ECHANTILLON ARCHEOLOGIQUE .....	215
7.1. Données issues de la XRF.....	215
7.2. Données issues de la spectroscopie RAMAN .....	216
7.3. Données issues de la microtomographie.....	217
7.3.1. Données en 2D .....	217
7.3.2. Données en 3D .....	218
7.4. Croisement des données .....	228

7.5. Article « Analytical evidence of enamel hypomineralisation on permanent and primary molars among past populations » Garot E, Couture-Veschambre C, Cédric Beauval, Manton D, Rouas P. ....	230
---	-----

## **Chapitre 6 Discussion.....241**

1. COMPARAISON DE NOS DONNEES SUR LA CARACTERISATION DE L'EMAIL HYPOMINERALISE AVEC LA LITTERATURE .....	245
1.1. MEB-EDX.....	245
1.2. Spectroscopie Raman .....	245
1.3. Microtomographie.....	246
1.4. Fluorescence X.....	247
1.5. Conclusion.....	247
2. COMPARAISON DE NOS DONNEES SUR LA CARACTERISATION DE L'EMAIL COLORE PAR TAPHONOMIE AVEC LA LITTERATURE .....	248
3. GUIDE DE DIAGNOSTIC ET CONSIDERATIONS METHODOLOGIQUES .....	252
3.1. Choix justifié des techniques d'analyse .....	252
3.2. Méthodes d'analyse.....	253
3.3. Interprétation des résultats .....	253
4. DECOUVERTE ET PREVALENCE DES HMI DANS LES POPULATIONS DU PASSE : QUELLES IMPLICATIONS ?.....	255
4.1. Prévalence des HMI dans les séries archéologiques .....	255
4.2. Les hypothèses étiologiques des HMI .....	257
4.3. État sanitaire et conditions de vie des populations du passé.....	263
4.3.1. États sanitaires à travers les âges.....	263
4.3.2. Accouchement et naissance.....	264
4.3.3. Les infections et maladies de la petite enfance à travers les âges .....	266
4.4.4. Carences alimentaires au cours du temps.....	267
4.4.5. État sanitaire de la population de Sains-en-Gohelle.....	269
5. COLORATIONS TAPHONOMIQUES : QUELLES IMPLICATIONS ?.....	271

## **Conclusion et perspectives.....273**

1. CONCLUSION .....	275
2. PERSPECTIVES .....	277
BIBLIOGRAPHIE .....	281

ANNEXES ..... 301

# Liste des tableaux

---

<b>Tableau 1.</b> Terminologie des défauts de l'émail pouvant s'apparenter à des HMI.....	61
<b>Tableau 2.</b> Études incluses dans la revue de la littérature portant sur les propriétés morphologiques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats.....	68
<b>Tableau 3.</b> Études incluses dans la revue de la littérature portant sur les propriétés mécaniques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats. ....	69
<b>Tableau 4.</b> Études portant sur la densité minérale (DM) de l'émail hypominéralisé (EH) et leurs résultats.....	70
<b>Tableau 5.</b> Études portant sur les propriétés chimiques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats.....	70
<b>Tableau 6.</b> Répartition des individus sélectionnés en fonction du nombre de PMP hypominéralisées recueillies.. ....	102
<b>Tableau 7.</b> Répartition des individus de la série de Sains-en-Gohelle en fonction des différentes classes d'âge. ....	106
<b>Tableau 8.</b> Distribution des individus (Ind) sélectionnés en fonction des séries. ....	116
<b>Tableau 9.</b> Enregistrement des données sur une PMP maxillaire gauche affectée par une HMI. ....	126
<b>Tableau 10.</b> Paramètres enregistrés pour les analyses en spectrométrie Raman.....	139
<b>Tableau 11.</b> Interprétation du score kappa. ....	144
<b>Tableau 12.</b> Tests statistiques et variables testées dans notre étude. ....	147
<b>Tableau 13.</b> Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans la série de Sains-en-Gohelle. ....	155
<b>Tableau 14.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série Sains-en-Gohelle.. ....	155
<b>Tableau 15.</b> Données relatives aux individus sélectionnés dans la série de Cognac Saint-Martin. ....	156
<b>Tableau 16.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série de Cognac.....	156
<b>Tableau 17.</b> Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans la série de Beauvais. ....	157
<b>Tableau 18.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série de Beauvais. ....	157

<b>Tableau 19.</b> Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans les séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais)..	158
<b>Tableau 20.</b> Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés parmi les séries du <i>Museum</i> de Londres.....	160
<b>Tableau 21.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes appartenant aux individus sélectionnés parmi les séries du <i>Museum</i> de Londres.....	160
<b>Tableau 22.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série LSS85.....	161
<b>Tableau 23.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série FAO90.....	162
<b>Tableau 24.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série MIN86b.....	163
<b>Tableau 25.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées des séries MPY86, GYE92 et PIC87.....	164
<b>Tableau 26.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série MIN86a.....	165
<b>Tableau 27.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série NLB91.....	166
<b>Tableau 28.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série GDV96.....	167
<b>Tableau 29.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série OCU00.....	168
<b>Tableau 30.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de l'individu issu de la série de Jau-Dignac-et-Loirac.....	169
<b>Tableau 31.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de l'individu 2001 issu de la série de Jau-Dignac-et-Loirac.....	170
<b>Tableau 32.</b> Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans toutes les séries archéologiques.....	171
<b>Tableau 33.</b> Données relatives aux premières molaires permanentes colorées des séries archéologiques.....	172
<b>Tableau 34.</b> Caractéristiques de l'échantillon sélectionné issu de la série de Broadgate (LSS85).....	175

<b>Tableau 35.</b> Nombre de premières molaires permanentes enregistrées en fonction des critères suivants : hypoplasie, colorée, cariée, saine, perte ante-mortem dans la série de Broadgate (LSS85)..	176
<b>Tableau 36.</b> Caractéristiques des colorations (diffuse ou délimitée) et tests du kappa de Fleiss (test inter-observateurs) réalisés entre les 3 examinateurs pour chaque individu.	176
<b>Tableau 37.</b> Tests intra-observateur (kappa de Cohen) pour chaque diagnostic de coloration HMI et TPH.	177
<b>Tableau 38.</b> Test U de Mann-Whitney réalisé entre le type de coloration (diffuse ou délimitée) et le diagnostic proposé (HMI ou TPH).	177
<b>Tableau 39.</b> Test U de Mann-Whitney réalisé entre les concentrations en éléments chimiques entre l'émail sain (n=7) et l'émail hypominéralisé (n=27).	185
<b>Tableau 40.</b> Test de Wilcoxon (test pour échantillons appariés) comparant les ratios A960/A1070 entre une zone hypominéralisée et une zone saine au sein de l'échantillon de dents présentant une HMI.	187
<b>Tableau 41.</b> Densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée et saine.	188
<b>Tableau 42.</b> Test de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisé entre les zones hypominéralisées et saines au sein d'une même dent.	191
<b>Tableau 43.</b> Densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée et saine.	191
<b>Tableau 44.</b> (a) Concentrations relatives (en % massique) des éléments majeurs tels que le Ca et le P ainsi que des éléments mineurs tels que le Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr et le Pb, contenues dans l'émail sain et dans l'émail hypominéralisé (hypo) de dents actuelles présentant une HMI. (b) Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre l'émail hypominéralisé et l'émail sain.	193
<b>Tableau 45.</b> Concentrations relatives (pourcentage massique, w%) des éléments majeurs (P et Ca) et des éléments mineurs (Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr et Pb) pour l'émail coloré (Colo) et l'émail normal (No), issues des 9 dents colorées par taphonomie (TPH).	197
<b>Tableau 46.</b> Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les concentrations relatives en Mn, Cu, Fe et Pb entre l'émail normal et l'émail coloré.	197
<b>Tableau 47.</b> Comparaison des ratios A960/A1070 entre l'émail normal et l'émail coloré de dents colorées par taphonomie (TPH).	198
<b>Tableau 48.</b> Test de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les ratios A960/A1070 entre l'émail sain et l'émail coloré.	198

<b>Tableau 49.</b> Densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones colorée et saine. ....	199
<b>Tableau 50.</b> Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre les DM des zones colorées et saines au sein d'une même dent. ....	200
<b>Tableau 51.</b> Synthèse des différents diagnostics possibles en fonction des résultats issus des différentes techniques d'analyses (spectroscopie Raman, microtomographie et fluorescence X). ....	204
<b>Tableau 52.</b> Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les concentrations relatives en Mn, Cu, Fe et Pb entre l'émail normal et l'émail coloré. ....	216
<b>Tableau 53.</b> Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les ratios A960/A1070 entre l'émail normal et l'émail coloré. ....	217
<b>Tableau 54.</b> Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre les densités minérales des zones colorées et saines au sein d'une même dent. ....	217
<b>Tableau 55.</b> Croisement des données (test de Wilcoxon pour échantillons appariés) en fonction des différentes techniques : fluorescence X (XRF), spectroscopie Raman (RAMAN) et microtomographie ( $\mu$ CT)... ..	229
<b>Tableau 56.</b> Tests U-de Mann Whitney réalisés entre le type de coloration (diffuse ou délimitée) et le diagnostic proposé (HMI ou TPH)... ..	230
<b>Tableau 57.</b> Dates de la découverte et de la commercialisation des différents facteurs étiologiques des HMI proposés dans la littérature. Compatibilités de ces facteurs en fonction de leurs contemporanéités avec les spécimens archéologiques présentant des HMI ainsi qu'avec la période de maturation des premières molaires permanentes (PMP). ....	262

# Liste des figures

---

<b>Figure 1.</b> Odontogénèse.....	51
<b>Figure 2.</b> Amélogénèse.....	52
<b>Figure 3.</b> Étapes de formation de l'émail.....	53
<b>Figure 4.</b> Composition de l'émail mature et immature. ....	54
<b>Figure 5.</b> Émail dentaire.....	54
<b>Figure 6.</b> Prismes de l'émail en coupe transversale.....	55
<b>Figure 7.</b> Opacités délimitées de l'émail issues de dents actuelles : opacité blanche sur une PMP maxillaire gauche (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France), opacités beige sur une PMP maxillaire gauche et opacité jaune-brune sur une PMP maxillaire droite (Melbourne dental school, Australie). ....	62
<b>Figure 8.</b> Photographie de gauche : fracture post-éruptive de l'émail d'une première molaire permanente maxillaire gauche. Photographie de droite : restauration atypique sur une première molaire permanente maxillaire gauche (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).....	63
<b>Figure 9.</b> Sévérité des défauts de type HMI (de gauche à droite : léger, modéré et sévère) issus de dents actuelles avec de gauche à droite : une PMP maxillaire gauche, une PMP mandibulaire droite et une PMP maxillaire droite (Melbourne dental school, Australie). ....	64
<b>Figure 10.</b> Coupe transversale d'un défaut de type HMI beige en lumière naturelle (à gauche) et sous transillumination (à droite) d'une PMP maxillaire droite actuelle (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). ....	66
<b>Figure 11.</b> Répartition des prévalences des HMI en fonction des pays dans le monde. ....	72
<b>Figure 12.</b> Hypothèses étiologiques les plus fréquemment citées dans la littérature.....	73
<b>Figure 13.</b> Influence des règles d'optique sur la teinte de la dent au sein de l'émail sain.. ....	80
<b>Figure 14.</b> Influence des règles d'optique sur la teinte de la dent au sein de l'émail hypominéralisé.....	81
<b>Figure 15.</b> Photographies intra-buccales d'une patiente de 6 ans (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) en phase de denture mixte atteinte par une amélogénèse imparfaite héréditaire de type hypominéralisation. ....	82
<b>Figure 16.</b> Photographie d'un patient présentant des hypoplasies punctiformes sur ses incisives centrales maxillaires dans le cadre d'une amélogénèse imparfaite de type hypoplasique (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). ....	82

<b>Figure 17.</b> Photographie d'un patient présentant des hypoplasies linéaires sur sa PMP mandibulaire droite et sur ses incisives centrales maxillaires dans le cadre d'une maladie rénale (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). .....	83
<b>Figure 18.</b> Photographie d'un patient présentant une fluorose dentaire atteignant toutes ses dents (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) courtoisie Dr Patrick Rouas.....	83
<b>Figure 19.</b> Photographies d'un patient présentant une hypominéralisation d'origine traumatique sur la face vestibulaire de son incisive centrale maxillaire gauche (vue de face) ainsi qu'une anomalie de forme (vue occlusale) (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). .....	84
<b>Figure 20.</b> Photographie d'une première molaire maxillaire montrant une lésion carieuse initiale sur sa face interproximale (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). .....	84
<b>Figure 21.</b> Mulberry molars des PMP maxillaire gauche et mandibulaire droite en cours d'éruption chez un individu probablement atteint de Syphilis (REW92_67, 19 <sup>ème</sup> siècle, <i>Museum</i> de Londres). .....	85
<b>Figure 22.</b> Incisives de Hutchinson (photographies du haut) et mulberry molars au niveau de la PMP mandibulaire droite (* photographie du bas) chez un individu probablement atteint de Syphilis (FAO90_1682, 18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres). .....	85
<b>Figure 23.</b> Photographies d'un individu présentant un probable rachitisme avec des hypoplasies de l'émail, des hypominéralisations de l'émail et de la dentine (sur les PMP, les canines et les incisives), une déformation du maxillaire et des atteintes parodontales sévères des PMP (spécimen OCU00_230, 18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres). .....	86
<b>Figure 24.</b> Lésion carieuse initiale sur une PMP mandibulaire gauche colorée par un facteur extrinsèque probablement d'origine alimentaire ou tabagique (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France). .....	87
<b>Figure 25.</b> Figure et légende extraites de l'article de Ogden et al. (2008) « Photographies des dents montrant : a. Probable HMI de la pointe cuspidienne de la PMP mandibulaire gauche; b. Probable HMI de la cuspide disto-vestibulaire de la 2 <sup>nd</sup> e molaire déciduale gauche ; c. Probable HMI de la cuspide mésio-vestibulaire et la crête marginale mésiale de la 2 <sup>nd</sup> e molaire déciduale gauche ; d. Vue montrant la symétrie en miroir des défauts de chaque côté. » .....	88
<b>Figure 26.</b> Figure et légende extraites de l'article de Curzon et al. (2015) « Photographies montrant : (a) vue linguale des dents antérieures mandibulaires ; (b) vue occlusale des dents	

mandibulaires ; (c) vue latérale gauche ; (d) photographie identique à (a) (erreur dans la publication...). ».....	89
<b>Figure 27.</b> Figure et légende extraites de l'article de Kuhnisch et al. (2016) «Opacités délimitées sur une incisives maxillaires (a) et une PMP (b) ; carie de l'émail (c) ; Hypoplasie linéaire de l'émail (d) ; Hypoplasie (e) ; Combinaison d'une hypominéralisation/hypoplasie (f). (a-c) signes caractéristiques des HMI selon les critères de l'EAPD».....	90
<b>Figure 28.</b> Traces (*) sur les faces occlusale et palatine de la PMP maxillaire gauche appartenant à l'individu 172 (13 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup> siècles, Jau-Dignac-et-Loirac).....	92
<b>Figure 29.</b> Photographie représentant une coloration taphonomique causée probablement par une immersion dans l'eau (MIN86_9414, 14 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres).....	93
<b>Figure 30.</b> Photographies. A gauche : colorations d'origine taphonomique sur la mandibule et les dents du spécimen JAU_152 (13 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup> siècles, Jau-Dignac-et-Loirac). A droite : colorations d'origine taphonomique sur les dents appartenant au spécimen GYE92_10699 (11 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres).....	93
<b>Figure 31.</b> Photographies. A gauche : coloration taphonomique due à un objet en cuivre sur le ramus de la mandibule de l'individu OCU00_230 (18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres). A droite : coloration dentaire taphonomique sur une PMP maxillaire droite due à un supposé objet métallique en fer (OCU00_490, 18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup> siècles, <i>Museum</i> de Londres).....	95
<b>Figure 32.</b> Localisation géographique des 4 séries archéologiques françaises (Beauvais, Cognac Saint-Martin, Jau-Dignac-et-Loirac et Sains-en-Gohelle).....	103
<b>Figure 33.</b> Carte de Londres en 1300. ....	104
<b>Figure 34.</b> Localisation géographique des différents sites archéologiques du <i>Museum</i> de Londres.....	109
<b>Figure 35.</b> Opacités délimitées de l'émail sur les incisives permanentes maxillaires et mandibulaires de couleurs blanche (*), beige (**), et jaune-brune (***) chez un patient atteint par une HMI (courtoisie Dr Patrick Rouas).....	122
<b>Figure 36.</b> Critères enregistrés. a. (*) : fracture post-éruptive de l'émail chez un patient atteint de HMI présents sur une première molaire mandibulaire droite (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) ; b. (*) opacité diffuse de l'émail jaune-brune sur une PMP mandibulaire droite (LSS85_1371, <i>Museum</i> de Londres) ; c. (*) hypoplasies de l'émail sur une PMP mandibulaire droite (FAO90_2101, <i>Museum</i> de Londres) ; d. (*) perte ante-mortem d'une seconde molaire déciduale mandibulaire gauche (FAO90_1296, <i>Museum</i> de Londres).....	124

<b>Figure 37.</b> Présentation des différents scores (de 0 à 6) de la classification ICDAS II à partir de dents actuelles (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).....	125
<b>Figure 38.</b> Exemple d'enregistrement des données d'une PMP maxillaire gauche affectée par une HMI (Melbourne dental school, Australie). .....	125
<b>Figure 39.</b> Matériel photographique utilisé avec de gauche à droite un boîtier reflex Nikon <sup>MD</sup> D90, un objectif Tamron <sup>MD</sup> SP AF 90 mm/2,8 et un flash annulaire macro Metz <sup>MD</sup> .....	127
<b>Figure 40.</b> Photographies d'une PMP maxillaire gauche (SeG_407, Sains-en-Gohelle, France) sous 5 vues (de gauche à droite occlusale, vestibulaire, mésiale, linguale et distale) sur un fond noir de type papier Canson <sup>MD</sup> (France) mat noir avec l'ajout d'une échelle photographique millimétrique de 5cm. ....	127
<b>Figure 41.</b> Microscope électronique à balayage à pression variable Jeol <sup>MD</sup> (USA) associé à un détecteur RX à dispersion d'énergie. ....	128
<b>Figure 42.</b> Image en MEB de la surface d'émail sain d'une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG_782, Sains-en-Gohelle). ....	129
<b>Figure 43.</b> Disposition de trois dents sur le porte-échantillon de la platine du microscope électronique à balayage. ....	131
<b>Figure 44.</b> Images en MEB suite à des zooms successifs d'une zone saine située sur une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG_782, Sains-en-Gohelle). ....	131
<b>Figure 45.</b> Spectre de la composition chimique généré par la MEB-EDX d'une zone saine située sur une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG_782, Sains-en-Gohelle).....	132
<b>Figure 46.</b> Équipement : microtomographe X GE phoenix <sup>MD</sup> V/TOME/SX (PLACAMAT, UMS 3626).....	133
<b>Figure 47.</b> À gauche : coupe horizontale d'une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG_407, Sains-en-Gohelle, France) sur laquelle le trait de mesure est tracé de la dentine (A et C) jusqu'à la surface (B et D), en rouge dans l'émail coloré et en bleu dans l'émail sain. À droite : histogrammes représentant les niveaux de gris en fonction de la localisation des mesures sur le trait.....	135
<b>Figure 48.</b> Coupe microtomographique (a) et représentation en 3D (b) d'une première molaire maxillaire gauche permanente présentant une opacité illustrée en b par une coloration brune (SeG_407, Sains-en-Gohelle, France).....	136

<b>Figure 49.</b> Spectromètre XploRA <sup>MD</sup> (Horiba Jobin-Yvon, Japon) (ISM, UMR 5255 CNRS). .....	137
<b>Figure 50.</b> Spectre représentant la déconvolution des pics semi-automatique en fonction de leur longueur d'onde (abscisse) et de leur intensité (ordonnée)......	140
<b>Figure 51.</b> Identification des différents groupements moléculaires à partir d'un spectre issu d'une analyse réalisée dans de l'émail dentaire. ....	140
<b>Figure 52.</b> Spectromètre de Fluorescence X à dispersion d'énergie SEIKO <sup>MD</sup> SEA 6000VX (Tokyo, Japon) IRAMAT-CRP2A (Université Bordeaux Montaigne, UMR 5060)......	141
<b>Figure 53.</b> A gauche : image de la zone d'intérêt choisie en déplaçant le laser. A droite : image de la platine support sur laquelle sont placées les dents. ....	142
<b>Figure 54.</b> Histogrammes d'une analyse en fluorescence X avec la condition 1 (à gauche) et la condition 2 (à droite) donnant les concentrations relatives des différents éléments chimiques testés au sein d'une zone colorée sur une dent archéologique. ....	143
<b>Figure 55.</b> Répartition des effectifs (n ; %) en fonction des anomalies enregistrées au sein de l'échantillon de 46 dents porteuses de défauts de type HMI : opacités délimitées (opde), fractures post-éruptives de l'émail (fpe), restaurations atypiques (ra), opacités diffuses (opdi), hypoplasies (hypl), lésions de score ICDAS supérieur à 2 (ic)......	151
<b>Figure 56.</b> Répartition des effectifs de PMP colorées (n ; %) en fonction du numéro des PMP (16 ; 26 ; 36 ; 46) au sein de l'échantillon de 46 dents présentant une HMI. ....	152
<b>Figure 57.</b> Répartition des effectifs des opacités de l'émail (n ; %) en fonction de leurs couleurs blanche (bl), beige (be) et jaune-brune (jb) au sein de l'échantillon de 46 dents présentant des défauts de type HMI. ....	152
<b>Figure 58.</b> Répartition des effectifs des opacités de l'émail en fonction de leurs distributions (n ; %), de leurs localisations (n ; %) (cor : coronaire, med : médian, cerv : cervicale) et de leurs étendues (n ; %) sur les surfaces dentaires affectées (1/3, 2/3 et 3/3) au sein des de l'échantillon de 46 dents présentant une HMI. ....	153
<b>Figure 59.</b> Répartition des effectifs des opacités de l'émail (n ; %) en fonction de leurs couleurs blanche, beige et jaune-brune au sein des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais). ....	158
<b>Figure 60.</b> Répartition des opacités sur les différentes surfaces dentaires (mésiale, distale, vestibulaire, linguale et occlusale) provenant des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais). ....	159

<b>Figure 61.</b> Étendue des opacités sur les surfaces dentaires atteintes (1/3, 2/3 et 3/3) provenant des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais). .....	159
<b>Figure 62.</b> Distribution des PMP colorées, hypoplasées, cariées et des pertes <i>ante-mortem</i> . .....	171
<b>Figure 63.</b> Distribution des PMP colorées en fonction de l'arcade (16 ; 26 ; 36 ; 46).....	171
<b>Figure 64.</b> Répartition des opacités en fonction de leurs couleurs (blanche, beige et jaune-brune) présentes sur les premières molaires permanentes colorées des séries archéologiques. .....	172
<b>Figure 65.</b> Distribution des opacités (Op.) délimitées et diffuses présentes sur les premières molaires permanentes colorées des séries archéologiques. ....	173
<b>Figure 66.</b> Distribution des opacités en fonction de leur profondeur (émail ou émail/dentine) provenant des dents des séries archéologiques. ....	173
<b>Figure 67.</b> Répartition des opacités sur les différentes surfaces dentaires (mésiale, distale, vestibulaire, linguale et occlusale) provenant des séries archéologiques.....	173
<b>Figure 68.</b> Répartition des opacités en fonction de leur localisation sur une surface dentaire (coronaire, médiane et cervicale) provenant des dents des séries archéologiques. ....	174
<b>Figure 69.</b> Étendue des opacités sur les surfaces dentaires atteintes (1/3, 2/3 et 3/3) provenant des séries archéologiques. ....	174
<b>Figure 70.</b> Distribution des différentes anomalies enregistrées : opacités, hypoplasies, lésions carieuses (score ICDAS 2 au minimum) et perte <i>ante-mortem</i> (PAM) provenant des PMP des séries archéologiques.....	174
<b>Figure 71.</b> Distributions et caractéristiques des colorations parmi les 6 individus sélectionnés par le kappa de Fleiss (LSS85 1338, 852, 684, 1322, 1487 and 1197). ....	178
<b>Figure 72.</b> Diagrammes de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations relatives (en % massique) en Ca et en P des zones hypominéralisées (hypo) et saines. ....	180
<b>Figure 73.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des ratios de Ca/P des zones hypominéralisées (hypo) et saines. ....	181
<b>Figure 74.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations de F (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.....	181

<b>Figure 75.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations de Zn (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.....	182
<b>Figure 76.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations relatives en Na (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines. ....	182
<b>Figure 77.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations en Cl (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.....	183
<b>Figure 78.</b> Diagramme de type boîte à moustache ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations en Mg, Al, Si, S et Sc (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.....	184
<b>Figure 79.</b> Spectres Raman de l'intensité (en coups) en fonction de la longueur d'onde (en $\text{cm}^{-1}$ ) d'une zone hypominéralisée (ligne en pointillés) et d'une zone saine (ligne continue) issus d'une dent actuelle HMI.....	186
<b>Figure 80.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée (ligne en tiret) et saine (ligne continue). ....	189
<b>Figure 81.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») de l'émail sain, mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail en fonction de la couleur de l'émail hypominéralisé (blanc, beige et jaune-brun) situé sur les dents dont il est issu. ....	189
<b>Figure 82.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail) de l'émail sain et de l'émail hypominéralisé (jaune-brun, beige et blanc). ....	190
<b>Figure 83.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 5 cubes équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée et saine. ....	191
<b>Figure 84.</b> Diagrammes de type boîte à moustaches ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations (% massique) en P et Ca des zones hypominéralisées (colo) et saines.....	192
<b>Figure 85.</b> Diagramme de type boîte à moustaches ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des ratios de Ca/P des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo).....	194

<b>Figure 86.</b> Diagrammes de type boîte à moustaches ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations (% massique) en Mn, en Cu et en Pb des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo). .....	194
<b>Figure 87.</b> Diagrammes de type boîte à moustaches ( <i>box plot</i> ) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (*) des concentrations (% massique) en Fe, Zn, Sr et en Sn des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo).....	195
<b>Figure 88.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones colorées (ligne en tirets) et saines (ligne continue) issues de l'échantillon de dents colorées par taphonomie.....	200
<b>Figure 89.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 5 cubes équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) provenant de l'échantillon de dents colorées par taphonomie. ....	201
<b>Figure 90.</b> Schéma de synthèse de l'évolution des densités minérales (DM) de la jonction émail-dentine (JED) jusqu'à la surface de l'émail pour un émail sain, un émail coloré par taphonomie, un émail atteint par une HMI et une déminéralisation de l'émail d'origine carieuse (scores ICDAS 1 et 2). ....	203
<b>Figure 91.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG_228_46. ....	218
<b>Figure 92.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (noire) et saine (grise) de la dent SeG_191_16.....	219
<b>Figure 93.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG_300_26. ....	219
<b>Figure 94.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG_1261_46. ....	220
<b>Figure 95.</b> Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG_385_46. ....	220

**Figure 96.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_407\_26. .... 221

**Figure 97.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_26. .... 222

**Figure 98.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_11. .... 223

**Figure 99.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_65. .... 223

**Figure 100.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_85. .... 224

**Figure 101.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_75.... 224

**Figure 102.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_55.... 225

**Figure 103.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface (5) de l'émail dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_335\_46..... 226

**Figure 104.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_335\_16..... 227

**Figure 105.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_137\_16..... 227

**Figure 106.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_1177\_36.. 228

<b>Figure 107.</b> Figure extraite de Fagrell (2011). Coupe sagittale d'une dent actuelle présentant une HMI. ....	277
<b>Figure 108.</b> Coupes microtomographiques d'une dent archéologique (Sains-en-Gohelle) réalisées au synchrotron SOLEIL (Saint-Aubin, Essonne, France). ....	278
<b>Figure 109.</b> Image issues de la Soprocure <sup>MD</sup> (Acteon) en mode cariologie à gauche et superposition des images réalisées à différents temps de réhydratation à partir du logiciel Photoshop <sup>MD</sup> (Adobe). Courtoisie Baptiste Berges. ....	280
<b>Figure 110.</b> Images issues de la Soprocure <sup>MD</sup> (Acteon) en mode lumière du jour à gauche et en mode cariologie à droite réalisées à partir d'une dent archéologique colorée par taphonomie (en haut) et de la PMP gauche maxillaire archéologique du spécimen SeG_407 dont le diagnostic de HMI a été préalablement mis en évidence (en bas). Courtoisie Dr Patrick Rouas (Projet HEAT). ....	280

# Liste des annexes

---

<b>Annexe 1.</b> Liste non exhaustive des hypothèses étiologiques des HMI citées dans les articles parus après 2001.....	301
<b>Annexe 2.</b> Formulaire (DC-2015-2415) relatif au recueil des dents adressé au ministère de la recherche et au Comité de Protection des Personnes du Sud-ouest et d’Outre-Mer III.....	303
<b>Annexe 3.</b> Réponses du ministère de la recherche et du Comité de Protection des Personnes du Sud-ouest et d’Outre-Mer III relatives au formulaire (DC-2015-2415). .....	311
<b>Annexe 4.</b> Protocole adressé aux stomatologues et chirurgiens maxillo-faciaux de la Gironde. ....	313
<b>Annexe 5.</b> Script élaboré par Frédéric Santos (Ingénieur d’étude en statistiques, CNRS, PACEA UMR5199) et utilisé avec le logiciel statistique R <sup>®</sup> (Team 2013).....	314
<b>Annexe 6.</b> Google formulaire (première série) présentant les 12 cas archéologiques et envoyé à différents examinateurs experts en HMI. ....	315
<b>Annexe 7.</b> Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 9 cas issus du vivant. Réponses des trois examinateurs (EG, PR et DM).....	319
<b>Annexe 8.</b> Données du test inter-observateurs. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 12 cas archéologiques. Les réponses des 19 examinateurs sont extraites du <i>Google formulaire</i> .....	319
<b>Annexe 9.</b> Données du test intra-observateur. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 12 cas archéologiques. Les réponses des 3 examinateurs sont extraites du <i>Google formulaire</i> .....	319
<b>Annexe 10.</b> Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 9 cas issus de la série archéologique de Broadgate (Museum de Londres). Réponses des trois examinateurs (EG, PR et DM).. .....	320
<b>Annexe 11.</b> Individu SeG_484 présentant des colorations sur toutes les dents mandibulaires gauches et sur l’os mandibulaire (dent n° 36) et inclus dans l’échantillon « taphonomie ». .	321
<b>Annexe 12.</b> Individu JAU_152 (dents n° 46, 34, 35, 36 et 16) présentant des colorations sur une grande partie des dents mandibulaires gauches et sur l’os mandibulaire, et inclus dans l’échantillon « taphonomie ». ....	321
<b>Annexe 13.</b> Individu JAU_2001 (dents n° 27, 47, 28 et 48) présentant des colorations sur toutes les dents mandibulaires gauches et sur l’os mandibulaire, et inclus dans l’échantillon « taphonomie ». ....	321

**Annexe 14.** Moyennes des concentrations relatives en Mn, Fe, Cu et Pb des zones colorées (colo) et non colorées (non colo) issues des spécimens archéologiques dont l'origine de la coloration de l'émail est non préalablement déterminée..... 322

# Liste des abréviations

---

Å : ångströms  
μCT : microtomographie  
AIH : amélogénèse imparfaite héréditaire  
Al : aluminium  
BP : before present  
BPs : bisphénols  
BPA : bisphénol A  
BPC : biphényles polychlorés  
BSE : électrons rétrodiffusés (*backscattered electron*)  
Ca : calcium  
CCD : dispositif à transfert de charge (*charge coupled device*)  
CHB : *center for human biology*  
Cl : chlore  
CW : onde continue (*continuous wave*)  
Cu : cuivre  
DDE : défauts de développement de l'émail  
DGLA : *Department of Greater London Archaeology*  
DM : densité minérale  
EAPD : académie européenne de dentisterie pédiatrique  
F : fluor  
FDI : fédération dentaire internationale  
Fe : fer  
FIB / FESEM : microscope électronique à faisceau d'ions focalisé et balayage en champ d'émission  
HAp : hydroxyapatite polysubstituées  
HMI : hypominéralisation molaire-incisive  
IC : intervalle de confiance  
IP : incisive permanente  
IR : indice de réfraction  
JED : jonction émail-dentine  
LF : laser fluorescence  
LM : microscope optique (light microscope)  
MD : marque déposée  
MEB : microscopie électronique à balayage  
MEB-EDS : Microscopie électronique à balayage avec spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie  
MEB-EDX : microscopie électronique à balayage associée à un détecteur à rayons X à dispersion d'énergie  
MEB/XRMA : Microscopie électronique à balayage/Micro-analyse à rayons X  
Mg : magnésium  
MIH : *Molar incisor hypomineralisation*  
Mn : manganèse  
MoL : *Museum de Londres*  
Na : sodium  
OR : Odds ratio  
P : phosphore  
Pb : plomb

PMP : première molaire permanente  
POLMI : microscope en lumière polarisée  
ppm : parties par million  
QLF : fluorescence quantitative (*Quantitative light fluorescence*)  
S : soufre  
Sc : scandinium  
sd : écart-type (*standard deviation*)  
Si : silicium  
SIMS : spectrométrie de masse à ionisation secondaire  
SNP : polymorphisme d'un seul nucléotide  
Sr : strontium  
S<sup>t</sup> : Saint  
TCDD : 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-para-dioxine  
UMIS : système à ultra-micro-indentation  
WORD : *wellcome osteological research database*  
wt% : pourcentage massique  
XRF : spectroscopie par fluorescence X  
Zn : zinc

# Introduction



La paléopathologie constitue l'un des nombreux domaines de recherche de l'anthropologie biologique. La paléopathologie humaine a contribué de manière importante à la reconstitution d'interactions complexes entre la maladie et les humains tout au long de l'émergence d'*Homo sapiens*. Après tout diagnostic pathologique, le chercheur doit alors se poser la question de la signification de cette information. Pour y répondre, il est nécessaire d'entreprendre une approche comparative fondée sur d'autres données biologiques et culturelles (Ortner 2011). Les dents constituent un centre d'intérêt majeur pour les anthropologues et la communauté médicale depuis de nombreuses générations. Elles contribuent à de nombreuses fonctions du corps humain telles que la mastication, la phonation et le développement du complexe maxillo-facial. Elles fournissent une multitude d'informations sur les êtres humains, comprenant entre autres les pratiques culturelles, les migrations humaines, les pathologies, les variations morphologiques, l'estimation de l'âge et la diagnose sexuelle (Hillson 2007). Dans un contexte archéologique, les dents sont les vestiges les mieux conservés car l'émail est le tissu le plus minéralisé du corps humain (Nanci 2008). Certaines pathologies, comme les hypoplasies de l'émail ou les lésions carieuses, apportent des informations sur l'état sanitaire des populations ainsi que sur l'état nutritionnel et le statut social des individus (Goodman *et al.* 1980, Walter *et al.* 2015). En 1982, la Fédération Dentaire Internationale (FDI) propose une classification des différents défauts de développement de l'émail (DDE) (FDI 1982). En raison du système de codage exhaustif et de l'examen de chaque surface dentaire, la cotation des DDE est chronophage et complexe à utiliser et à analyser. Ainsi, un nouvel indice (« DDE modifié ») est proposé (Clarkson 1992). Ce nouvel indice comprend l'émail sain, les opacités délimitées de l'émail, les opacités diffuses et les hypoplasies de l'émail. Parmi celles-ci, les opacités délimitées de l'émail sont séparées en 2 sous-groupes en fonction de leurs couleurs : blanche-crème et jaune-brune. En 2000, lors du 5<sup>ème</sup> congrès de l'Académie Européenne de Dentisterie Pédiatrique (EAPD), quatre communications présentent des DDE des premières molaires permanentes (Beentjes *et al.* 2000, Jalevik *et al.* 2000, Leppaniemi *et al.* 2000, Weerheijm *et al.* 2000). Toutes ces descriptions cliniques mettent en évidence des zones délimitées d'émail hypominéralisé (allant du blanc-beige au brun) sur les premières molaires permanentes avec dans les cas les plus sévères des fractures de l'émail. Ce phénomène a également été décrit en utilisant différents noms dans plusieurs études « *hypomineralised permanent first molars* », « *idiopathic enamel hypomineralisation in permanent teeth* », « *nonfluoride hypomineralisation in permanent first molars* » et « *cheese molars* » (Koch *et al.* 1987, van Amerongen et Kreulen 1995, Alaluusua *et al.* 1996a, Jan et Vrbic 2000). Ainsi, en 2001, le terme de *Molar Incisor Hypomineralisation* (dont l'acronyme fréquemment utilisé est *MIH*) est

proposé afin de donner une dénomination commune à tous les termes précédemment cités (Weerheijm *et al.* 2001). Ces hypominéralisations molaire-incisive (HMI) sont définies comme étant des anomalies de structure qualitatives de l'émail dentaire localisées sur au moins une première molaire permanente (PMP) associées de manière inconstante à des atteintes des incisives permanentes (IP).

Après une discussion lors du 6<sup>ème</sup> congrès de l'EAPD, en 2002, l'Académie constitue un groupe de travail sur le thème des HMI, groupe qui se réunira en 2003. A l'issue de cette nouvelle réunion, l'EAPD approuvera le terme de *Molar Incisor Hypomineralisation* et établira de manière consensuelle des critères de diagnostic précis pour cette anomalie. L'émail apparaît coloré (taches blanche-crème ou jaune-brune), poreux et friable sur les portions coronaires atteintes (Weerheijm *et al.* 2003). L'établissement de critères diagnostiques a favorisé la multiplication et la qualité des travaux de recherches. Cependant, certains points demeurent sans réponse ou laissent la porte ouverte à de nombreuses hypothèses. Aujourd'hui, les chiffres de la prévalence de ces HMI sont loin d'être négligeables et sont compris entre 2,9 et 44% d'individus atteints à des degrés plus ou moins sévères en fonction des populations actuelles étudiées (Elfrink *et al.* 2015). En raison de leur fréquence relativement importante, des dégâts occasionnés sur des dents permanentes prépondérantes d'un point de vue fonctionnel mais aussi d'un point de vue esthétique, elles constituent un véritable problème de santé publique. Les conséquences sont non seulement médicales, mais également économiques pour notre Société. A partir de ce constat, une problématique majeure se pose : *comment prévenir l'apparition des HMI ?* Actuellement, les traitements sont seulement symptomatiques, et en l'absence de cause(s) identifiée(s) à ce jour, aucune mesure de prévention des facteurs de risques ne peut être mise en place. Durant la dernière décennie, le nombre de publications sur le sujet est en augmentation sans qu'aucune cause ne soit clairement identifiée. Parmi les hypothèses étiologiques citées dans la littérature, certaines sont contemporaines. Elles concernent par exemple les polluants environnementaux (tels que les dérivés des dioxines (Laisi *et al.* 2008)), les bisphénols (Jedeon *et al.* 2013), ou certains médicaments (Serna *et al.* 2016) (tels que les antibiotiques (Whatling et Fearne 2008, Laisi *et al.* 2009, Ghanim *et al.* 2013) ou les anti-asthmatiques (Wogelius *et al.* 2010)). Des hypothèses intemporelles (non-contemporaine) sont également discutées telles que les maladies de la petite enfance, avec ou sans épisode de fièvre (Silva *et al.* 2016), une naissance prématurée (Arrow 2009), une hypoxie survenant à la naissance (Garot *et al.* 2016a), une prédisposition génétique ou l'influence de facteurs épigénétiques (Jeremias *et al.* 2013, Kuhnisch *et al.* 2014b, Vieira et Kup 2016). La plupart des

études sont de nature rétrospective et il n'y a pas à l'heure actuelle de preuve suffisante pour établir des facteurs responsables de l'anomalie (Crombie *et al.* 2009). Cependant, les auteurs s'accordent sur le caractère multifactoriel de l'étiologie (Lygidakis *et al.* 2010, Weerheijm 2015, Silva *et al.* 2016). Les études prospectives devraient fournir des résultats pertinents mais elles sont longues et complexes à mener. Il faut au minimum six années et l'éruption des premières molaires permanentes pour pouvoir recueillir les premiers résultats. L'échantillon initial doit être suffisamment important pour faire face aux difficultés d'un suivi médical très régulier sur une période si longue (de la fin de la grossesse jusqu'à l'âge de 6 ans). Une des premières publications utilisant cette méthodologie n'amène que peu d'éléments sur ce sujet précis (Fagrell *et al.* 2011). En attendant les résultats d'études prospectives, et en particulier de travaux multicentriques, l'apport d'études anthropologiques sur des collections intégrant un nombre important de spécimens immatures permettrait rapidement de répondre à certaines interrogations.

L'identification ou l'absence de ces HMI dans des populations anciennes permettrait de donner un peu moins ou un peu plus de crédit à certaines hypothèses étiologiques contemporaines liées à notre mode de vie : pollution *via* des dérivés de la dioxine, perturbateurs endocriniens tels que les bisphénols, certaines familles d'antibiotiques.... Certains auteurs ont ouvert la voie en étudiant une collection d'un cimetière de Londres (Broadgate) datée des 16<sup>ème</sup>-18<sup>ème</sup> siècles (Ogden *et al.* 2008). La prévalence des HMI dans la population étudiée par les auteurs (93,2%) apparaît comme très supérieure aux chiffres issus des populations du vivant et nous laissent perplexes (Rouas *et al.* 2012). En effet, dans une publication antérieure ces auteurs avaient précédemment diagnostiqués pour tous ces spécimens des hypoplasies de l'émail (Ogden *et al.* 2007). Les études publiées à ce jour sont basées sur un examen clinique visuel de la denture des individus tel qu'il est effectué dans les populations du vivant. Cependant, pour les spécimens archéologiques, une possible coloration *post-mortem* pouvant s'apparenter aux colorations beige-brunes des HMI n'est pas à exclure (Rouas *et al.* 2012). Les éléments contenus dans le sol d'enfouissement peuvent s'infiltrer dans l'émail dentaire et ainsi créer un biais taphonomique (Stermer *et al.* 1996, Mansilla *et al.* 2003). Le terme *taphonomie*, décrivant les « *processus post-mortem qui influent sur la survie de l'os* », a été introduit il y a près de 70 ans par Efremov (1940). Ces lois de sépulture ont été invoquées pour aider à interpréter les assemblages osseux fossiles et archéologiques. Dans son sens le plus large, la taphonomie concerne tous les aspects du passage des organismes de la biosphère à la lithosphère ou croûte terrestre. Au cours des dernières années, ce terme a été adopté pour décrire les changements

subis par les tissus squelettiques dans le milieu d'enfouissement. Ces changements peuvent entraîner la dissolution du tissu osseux ou sa cimentation par des minéraux exogènes, la recristallisation du minéral osseux ou son remplacement par d'autres espèces minérales.

La présence de ces anomalies de l'émail dans des populations du passé permettrait également d'apporter des informations sur l'état sanitaire de ces populations. De la même manière que pour les hypoplasies, nous pouvons supposer qu'en fonction de la localisation de l'hypominéralisation nous pourrions dater la survenue du facteur causal au cours de la croissance de l'enfant.

**Avant de conclure à la présence de ces anomalies sur des populations dites « anciennes » comme ont pu le faire Ogden *et al.* (2008), et par conséquent donner moins de crédit ou d'importance à certaines hypothèses étiologiques contemporaines, il nous paraît nécessaire d'éliminer les éventuels biais taphonomiques.**

# Chapitre 1

## Problématique et objectifs



La problématique de notre étude est la suivante :

**Pouvons-nous faire la distinction entre un processus pathologique de type hypominéralisation molaire-incisive et des processus taphonomiques (coloration dentaire *post-mortem*) dans les populations du passé ?**

Avant de conclure à la présence de HMI dans les populations du passé, il nous a donc paru primordial de chercher à répondre à cette question. Nous nous sommes donc fixés comme objectifs :

- d'étudier la structure physico-chimique des hypominéralisations à partir d'un échantillon de dents issues du vivant,
- d'étudier la composition des tissus amélaire colorés par des phénomènes taphonomiques à partir d'un échantillon de dents archéologiques et d'en tirer des informations sur les conditions de conservation des spécimens,
- de tester notre protocole permettant de faire la distinction entre processus *post-mortem* (taphonomique) et *ante-mortem* (pathologique) affectant l'organe dentaire,
- d'apporter des éléments de réponses sur l'étiologie de cette anomalie de structure,
- d'apporter des données sur l'état sanitaire d'une population, en relation avec les causes possibles des HMI (par exemple les problèmes liés à l'accouchement ou événements « *per-partum* »),
- de mettre en place des « passerelles » entre différentes techniques de micro-analyse amélaire.

Afin de mener à bien ce projet, nous avons décidé d'établir une stratégie nous permettant de répondre à cette problématique. Ce manuscrit comprend 5 parties :

- La première partie sera consacrée à une revue critique de la littérature sur les hypominéralisations de l'émail. Quelques notions préliminaires sur l'émail dentaire seront abordées. Ensuite, nous nous attarderons sur les critères de diagnostic et les hypothèses étiologiques des HMI évoquées dans la littérature. Enfin, nous aborderons les différentes études

évoquant la présence de HMI dans des populations du passé. Dans un second temps, nous étudierons la littérature portant sur les colorations taphonomiques dentaires qui pourront s'apparenter à des HMI et constituer un possible biais diagnostique.

- Notre deuxième partie sera dédiée à la présentation du matériel que nous utiliserons pour répondre aux différents objectifs. Ce matériel comprendra un échantillon de dents actuelles atteintes par une HMI et un échantillon archéologique incluant quatre séries médiévales françaises et 17 séries romaines, médiévales et post-médiévales anglaises.

- Dans une troisième partie, nous décrirons les méthodes destinées à l'analyse de notre matériel. Des dents actuelles seront étudiées en microscopie électronique à balayage associée à un détecteur rayons X à dispersion d'énergie (MEB-EDX). Des méthodes non-destructives seront ensuite utilisées pour analyser les dents actuelles et archéologiques et comprendront la microtomographie, la spectroscopie Raman et la fluorescence X.

- La quatrième partie de ce manuscrit comprendra la majorité de nos résultats. Dans un premier temps, nous testerons la reproductibilité et la fiabilité des critères de diagnostic des HMI basés sur un examen visuel dans des populations du passé. Dans un second temps, nous utiliserons différentes techniques pour caractériser l'émail hypominéralisé et l'émail coloré par taphonomie. À partir de ces données, nous établirons et testerons un guide de diagnostic permettant de différencier les HMI des colorations taphonomiques. Enfin, nous appliquerons ce guide à notre échantillon archéologique afin de déterminer l'origine des colorations présentes sur ces spécimens.

- La cinquième partie s'attachera à discuter ces résultats en fonction de la littérature existante et des dernières données de la science. Nous expliciterons également l'implication de nos résultats dans la résolution de la problématique évoquée précédemment.

- Dans une sixième partie, nous conclurons cette étude en mettant en avant nos principaux résultats et évoquerons les différentes perspectives qui s'offrent à nous.

# Chapitre 2 État de l'art : émail et hypominéralisations



*Afin d'appréhender les questions relatives aux hypominéralisations de l'émail il est nécessaire d'acquérir des notions sur la formation (l'amélogénèse), la structure et la composition de l'émail. Les données et connaissances actuelles sur l'émail permettront d'analyser et de critiquer une revue de la littérature portant sur les différents aspects des hypominéralisations de l'émail. Enfin, les données dont nous disposons sur les changements de couleur de l'émail survenant après la mort des individus seront examinées au regard de la littérature existante.*



# 1. Émail dentaire humain

## 1.1. Formation de l'émail dentaire humain

L'amélogénèse correspond à la formation de l'émail. L'émail est d'origine ectodermique. Les améloblastes qui sont responsables de l'amélogénèse sont issus de la différenciation des cellules de l'épithélium dentaire interne de l'organe de l'émail (Thesleff 2003). L'émail humain se forme à un taux d'environ  $4\mu\text{m}$  par jour, en débutant au niveau de la future localisation des cuspides de la dent (nœud de l'émail ; Figure 1) au 3<sup>ème</sup> ou 4<sup>ème</sup> mois de grossesse environ (Thibaut R. *et al.* 2007)

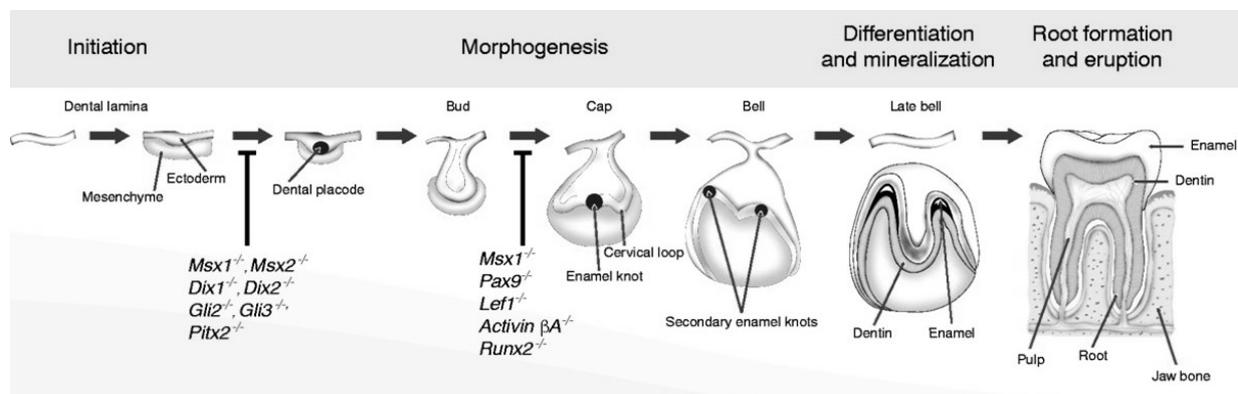


Figure 1. Odontogénèse d'après Thesleff (2003). *Enamel knot* : nœud de l'émail.

L'amélogénèse comprend la synthèse et la sécrétion des molécules de la matrice de l'émail, la minéralisation puis la maturation de l'émail (Figure 2) (Lignon *et al.* 2015). C'est au cours de ces différents stades que les améloblastes vont acquérir leurs différentes propriétés afin de produire un émail mature (Figure 3).

Lors de la **phase sécrétoire**, les améloblastes sont des cellules polarisées en forme de colonne. Les protéines de l'émail vont former la matrice de l'émail (émail aprismatique interne) (Lignon *et al.* 2015). Cette matrice sera alors partiellement minéralisée par une enzyme, la phosphatase alcaline. Lorsque cette première couche est formée, les améloblastes s'éloignent de la dentine, permettant le développement des prolongements de Tomes sur la partie apicale de l'améloblaste. La formation de l'émail se poursuit autour des améloblastes adjacents (ce qui induit la création d'une surface cloisonnée, ou *puits*, qui abrite les prolongements de Tomes) et également autour de l'extrémité de chaque prolongement de Tomes (ce qui induit le dépôt d'une matrice de l'émail à l'intérieur de chaque puit). La matrice à l'intérieur du puit deviendra à terme le prisme d'émail, et les cloisons deviendront à terme l'émail interprismatique. Le seul facteur

de distinction entre les deux est l'orientation des cristaux d'hydroxyapatite (Figure 2C) (Ruch 2001, Thibaut R. *et al.* 2007).

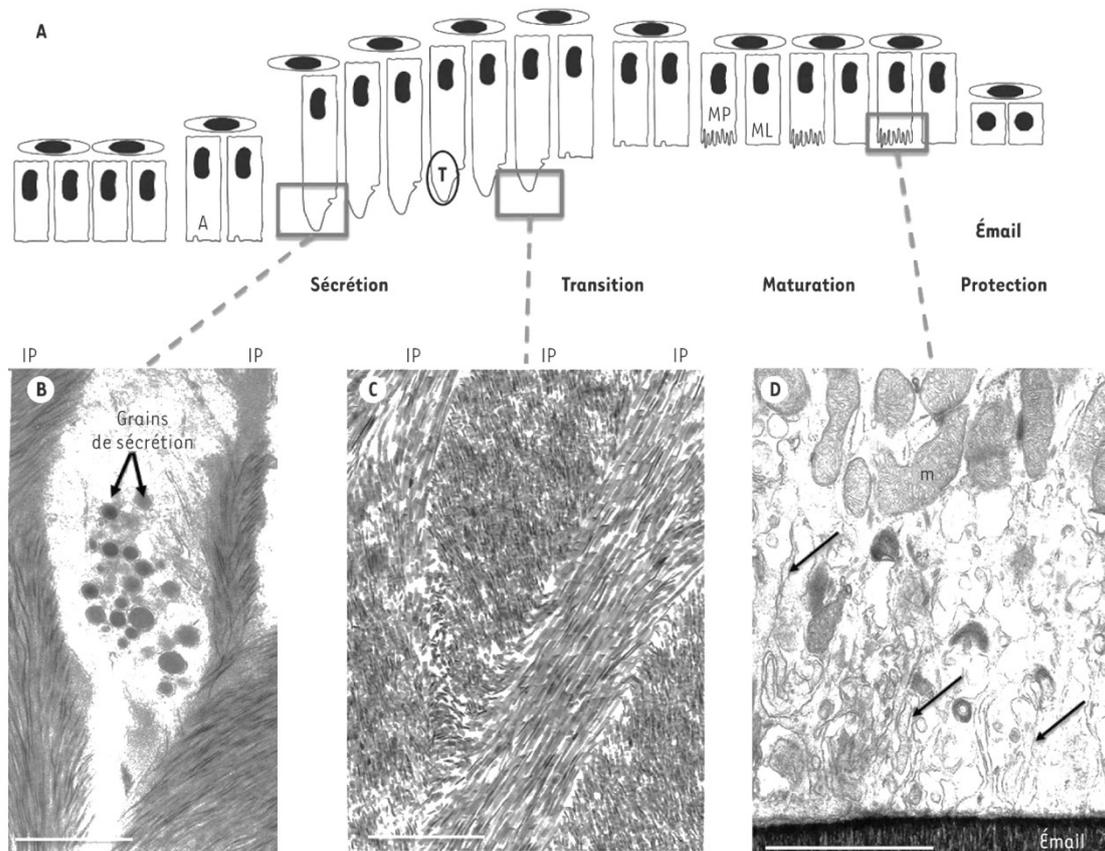


Figure 2. Amélogénèse (figure extraite de Lignon et al. (2015)).

A. Cycle des améloblastes pendant l'amélogénèse. T : prolongement de tomes, ML : améloblastes de maturation à bord lisse, MP : améloblastes de maturation à bord plissé.

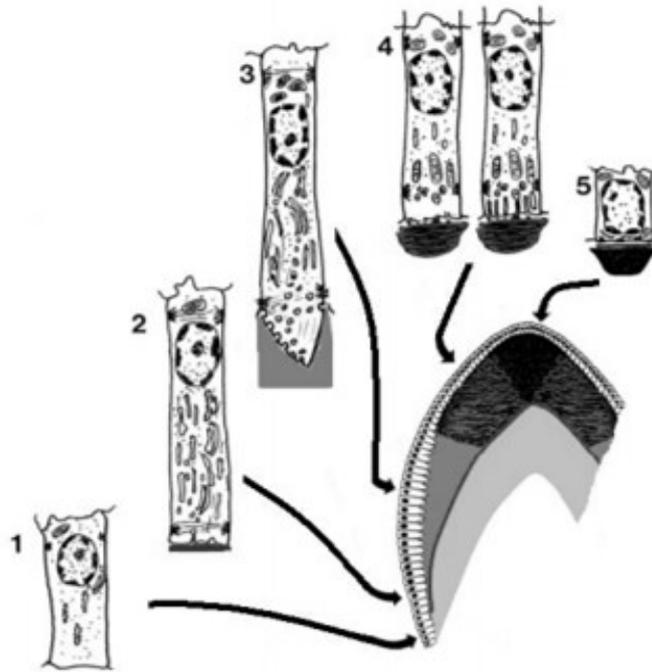
B. Le prolongement de Tomes (T) des améloblastes est observé en microscopie électronique à transmission. L'émail interprismatique (IP) en cours de formation est également visible.

C. Deux sites de sécrétion existent chez l'améloblaste : le premier se situe au niveau de la partie proximale du prolongement de Tomes et est responsable de la sécrétion de l'émail interprismatique. Le deuxième se situe au niveau de la partie distale du prolongement et sécrète l'émail prismatique. Plusieurs améloblastes participent à l'élaboration de l'émail interprismatique tandis que l'émail prismatique est produit par un seul améloblaste.

D. Les améloblastes de maturation à bords plissés sont observés en microscopie électronique à transmission. Les replis membranaires sont indiqués par les flèches. Ces améloblastes comprennent de nombreuses mitochondries (m) reflétant la forte activité métabolique en lien avec les transferts ioniques actifs. Barre d'échelle=2µm pour B, C et D.

Lors de la **phase de maturation**, les améloblastes transportent des substances utilisées dans la formation de l'émail. C'est la phase de croissance en épaisseur et en largeur des cristaux d'émail. L'aspect le plus notable de cette phase, au niveau tissulaire, correspond à la formation de striations ou de bordures ondulées sur ces cellules (les améloblastes de maturation). Ceci prouve que les améloblastes ont changé leur fonction : de productrices, les cellules deviennent transporteuses. Les protéines utilisées pour le processus final de minéralisation composent la

majorité du matériel transporté. Les principales protéines impliquées sont les amélogénines, les améloblastines, les enamélines et les *tuft proteins*. Pendant ce processus, les amélogénines et les améloblastines sont éliminées après usage, mais les enamélines et les *tuft proteins* sont laissées dans l'émail (Nanci et Goldberg 2001, Thibaut R. *et al.* 2007). On obtient ainsi un émail mature n'ayant presque plus de protéines, ni d'eau (réabsorbée principalement par les améloblastes de maturation à bordure lisse) (Figure 4). Cet émail est composé à 96% de cristaux et à seulement 3,2% d'eau et à 0,8% de matière organique (Goldberg 2008, Alliot-Licht 2012).



**Figure 3. Étapes de formation de l'émail d'après Alliot-Licht (2012). 1 : améloblaste pré-sécréteur, 2 : améloblaste sécréteur sans prolongement de Tomes, 3 : améloblaste sécréteur avec prolongement de Tomes, 4 : améloblaste de maturation et 5 : améloblaste de protection.**

Lorsque la maturation de l'émail est terminée, l'améloblaste se transforme en un améloblaste de protection (Figure 3). Son rôle est d'isoler l'émail du follicule dentaire tant que la dent n'est pas arrivée en bouche.

Pour chaque dent, l'émail se forme pendant un laps de temps donné. Si un bref incident survient, seules les dents dont l'amélogénèse est en cours seront atteintes.

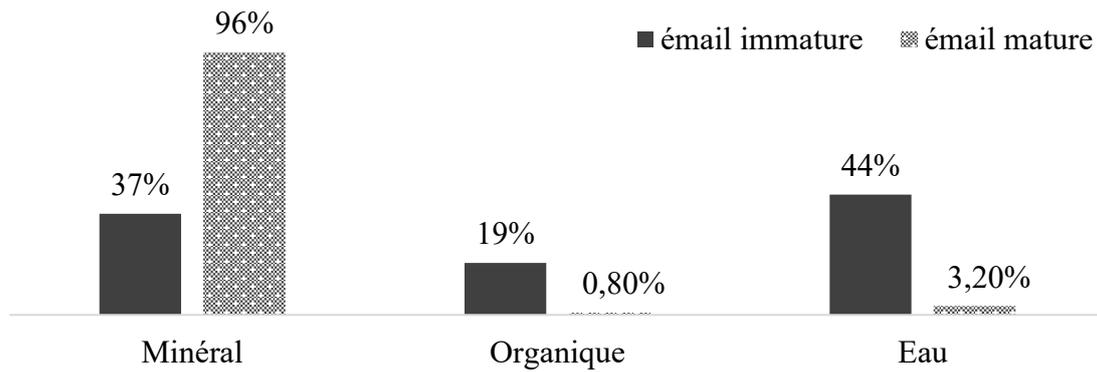


Figure 4. Composition de l'émail mature et immature.

## 1.2. Structure et composition de l'émail dentaire humain

L'émail est une structure minéralisée. Il est organisé en prismes, entourés de substance interprismatique, eux-mêmes composés de cristaux (cristallites) d'apatites carbonatées. Ces derniers sont formés d'hydroxyapatite polysubstituées (HAp) (Goldberg 2008). En fonction des méthodes d'analyse utilisées, l'émail peut être étudié sous différents aspects (Figure 5) :

1. Aspect macroscopique de l'émail dentaire humain ① ②
2. Aspect microscopique de l'émail dentaire humain ③
3. Composition de l'émail dentaire humain ④

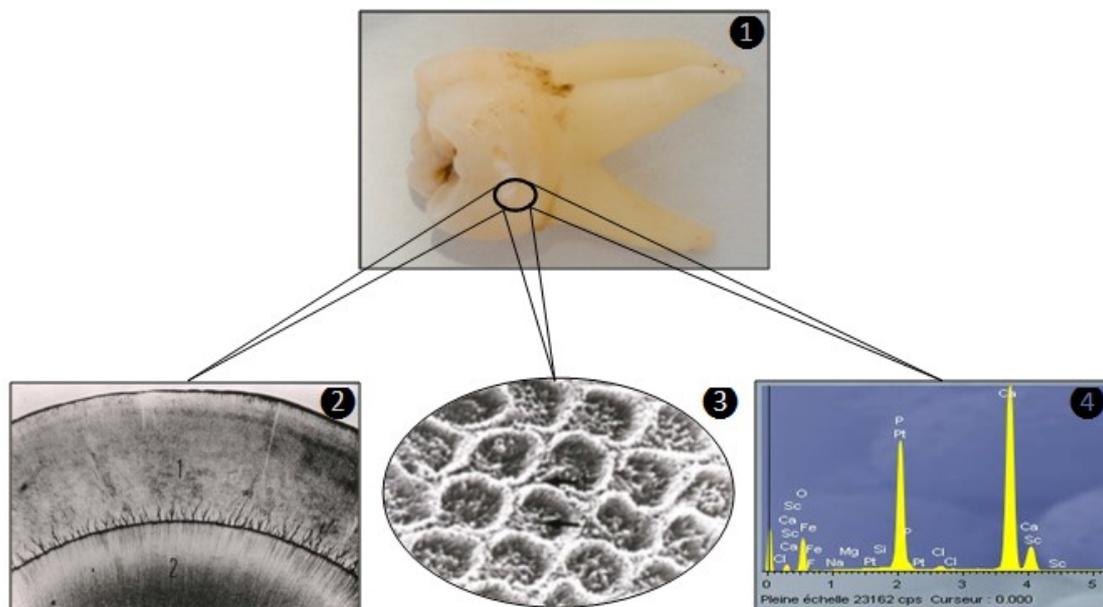


Figure 5. Émail dentaire.

① Photographie d'une première molaire permanente droite issue du vivant (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, Hôpital Pellegrin, France) ② Coupe histologique représentant l'émail (1) et la dentine (2) d'après Thibaut R. *et al.* (2007) ③ Image en microscopie électronique à balayage (MEB) représentant les prismes (←) et la substance interprismatique de l'émail dentaire humain extraite de Thibaut R. *et al.* (2007) ④ Analyse en MEB-EDX représentant les différents éléments (Ca, P, O, Na, Mg...) constituant l'émail dentaire d'une molaire permanente issue du vivant (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, Hôpital Pellegrin, France).

### 1.2.1. Aspect macroscopique de l'émail dentaire humain

La couronne des dents est recouverte par de l'émail, tissu le plus dur du corps humain. L'émail est posé sur une couche sous-jacente, la dentine, tissu moins minéralisé. L'épaisseur moyenne de l'émail est de 2,58mm pour les dents permanentes avec des disparités selon sa localisation sur la couronne dentaire. Comme l'émail est semi-translucide, la couleur de la dentine sous l'émail affecte fortement l'apparence de la dent (allant du jaune au gris clair). Structurellement, l'émail est extrêmement compact, avec peu d'espace poreux, de grands cristaux de phosphate (0,1nm de long), et une texture décussée (Hillson 2005).

### 1.2.2. Aspect microscopique de l'émail dentaire humain

La microstructure de l'émail est constituée de cristaux arrangés en prismes ou bâtonnets, qui s'étendent perpendiculairement de la jonction émail-dentine (JED) à la surface de la dent (Figure 6) (Nanci et Goldberg 2001). Les prismes sont à l'échelle du micromètre, tandis que monocristaux et cristallites sont à l'échelle de la dizaine ou de la centaine d'ångströms (Å), demandant à être examinés à des agrandissements poussés, voire à haute résolution (Meckel *et al.* 1965).

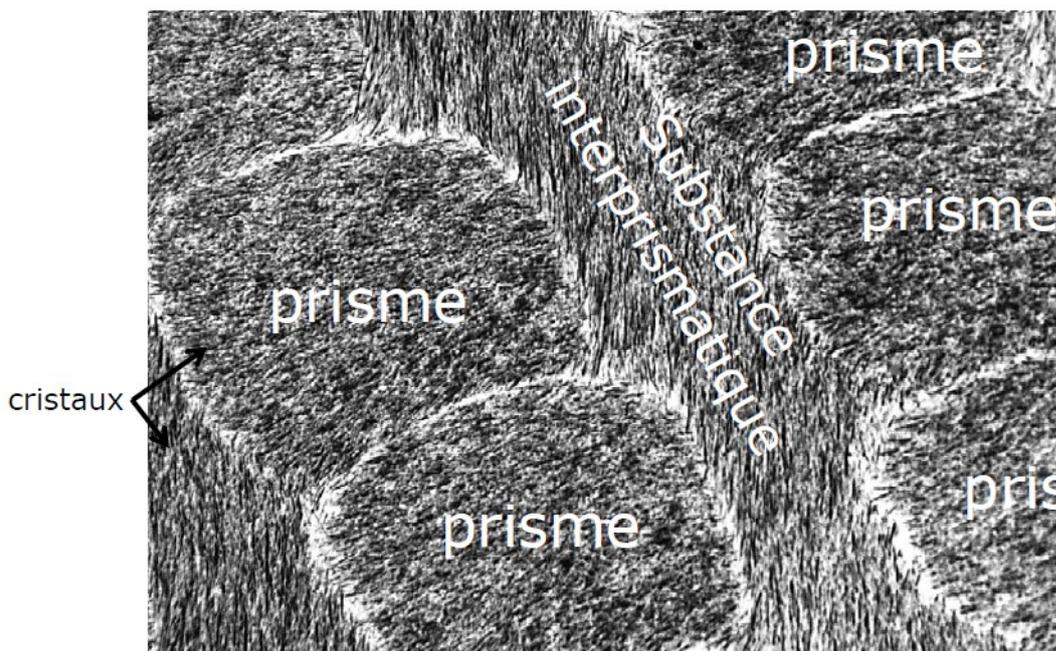


Figure 6. Prismes de l'émail en coupe transversale. Image en MEB extraite de Thibaut R. et al. (2007).

Le prisme a un diamètre de 3µm (Goldberg 2008). La zone située entre les prismes est riche en protéines et est appelée émail interprismatique. En coupe longitudinale, on observe que chaque prisme est bordé de part et d'autre par une fine bande d'émail interprismatique (Thibaut

R. *et al.* 2007). A l'interface entre prisme et interprisme, on trouve une gaine, fine bordure non minéralisée, enrichie en matrice organique. La matrice organique (reste de la matrice sécrétée par les améloblastes avant la minéralisation de l'émail) est constituée de glycoprotéines *keratin-like* riches en tyrosine (amélogénines, qui disparaissent pendant la formation de l'émail ; énamélines et *tuft protein*) et de polysaccharides. Dans la couche d'émail sans prisme (interprismatique), les cristaux d'hydroxyapatites sont disposés parallèlement les uns aux autres et perpendiculairement à la surface de l'émail (Nanci et Goldberg 2001).

La plus petite unité composant l'émail est le monocristal d'hydroxyapatite. Un monocristal sert de support à un deuxième qui s'y adosse. Un troisième s'y ajoute et ainsi de suite au fur et à mesure d'une croissance où les sous-unités successivement nucléées vont former un noyau initial qui s'accroît de façon centrifuge. Le noyau central du cristallite en cours de formation n'est pas formé par de l'HAp pure, mais par une apatite magnésinée et carbonatée, phase minérale désignée sous le nom de Huntite. Plus à la périphérie, la couronne du cristallite sera formée d'une HAp plus pure, donc plus stable. Ce processus de croissance entraîne des défauts d'empilement des sous-unités d'HAp constituantes. Ces défauts sont organisés soit en forme de vis (dislocation vis) au centre du cristallite soit en forme de dislocation coin, affectant alors la bordure externe du cristallite. Ces dislocations représentent aussi des zones mal stabilisées qui seront le siège des attaques initiales qui se produisent lors de la dissolution acide du cristallite. On peut considérer que, pour un plan de section perpendiculaire au grand axe de cette structure, la section hexagonale obtenue sera constituée de l'association d'environ 2100 monocristaux d'HAp. Des monocristaux d'HAp s'assemblent pour former un cristallite de section hexagonale, microstructure composant l'émail. Les cristallites sont globalement parallèles les uns aux autres dans les bordures interne et externe d'émail non prismatique. Ils ont une disposition en éventail dans les prismes et forment un angle d'environ 60° entre prismes et interprismes. Les cristaux de l'émail interprismatique sont donc orientés différemment. Entre le monocristal d'HAp et le cristallite, on passe d'une nanostructure (d'environ 10Å) à une microstructure amélaire de 500Å. On multiplie donc les paramètres par un facteur 50 (Goldberg 2008).

### ***1.2.3. Composition de l'émail dentaire humain***

L'émail se compose de 92 à 96% de matière minérale, de 3% de plasma et de 1% de matière organique (Driessens et Verbeeck 1990, Hillson 2005). La phase minérale de l'émail est très voisine d'une hydroxyapatite stœchiométrique :  $\text{Ca}_1(\text{PO}_4)(\text{OH})_2$ . La phase minérale est constituée principalement par des phosphates de calcium sous forme de cristaux

d'hydroxyapatite lesquels sont carbonatés ou fluorés. Sa cristallisation se fait dans un système hexagonal et fait intervenir des ions majeurs tels les ions phosphate (P), calcium (Ca), magnésium (Mg) et carbonate, des constituants présents en très faible quantité tels le fluor (F), le soufre (S), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le zinc (Zn) et enfin un certain nombre d'éléments traces (Nanci et Goldberg 2001).

La concentration moyenne de Ca et de P est respectivement de 37,1 et 18,1% dans l'émail des dents permanentes. Les différences dans les valeurs de Ca et P peuvent être dues à des facteurs tels que la région où les dents ont été recueillies, les variations individuelles entre les dents, le type, l'âge, l'origine ethnique et même la méthodologie appliquée (Derise et Ritchey 1974).

#### 1.2.3.1. Phase minérale (96%)

La phase minérale est formée par les éléments majeurs suivants (Goldberg 2008) :

- calcium : 33,6 -37,4% ;
- phosphate : 16,-17,4%.

Le rapport phosphocalcique varie donc entre 1,92 et 2,17 (en moyenne 2,06), c'est-à-dire qu'il est inférieur en moyenne à celui de l'hydroxyapatite pure (2,15) ;

- carbonates : 1,95-3,66% ;
- sodium : 0,25-0,90% ;
- magnésium : 0,25-0,56% ;
- chlore : 0,19-0,30% ;
- potassium : 0,05-0,30%.

On trouve par ailleurs tous les éléments de la table de Mendeleïev en tant que composants mineurs ou éléments traces, à l'exception du groupe des lanthanides. Plus précisément, on a identifié le fluor (62 à 650 parties par million, ou ppm), le fer (8-218ppm), le zinc (152-227ppm), le strontium (50-400ppm), du brome, du cuivre, du manganèse, de l'or, de l'argent, du chrome, du cobalt et bien d'autres éléments traces. Certains de ces éléments sont des reliquats d'ions associés à des enzymes (par exemple des métalloprotéases zinc-dépendantes), d'autres sont des contaminants résultants de situations environnementales variées (sols, aliments, eaux de boisson). Il en résulte une variation de teneur déconcertante à première vue où les écarts-types sont souvent supérieurs aux moyennes et nécessitent d'autres types d'analyse statistique (Goldberg 2008).

En volume, 13% de l'émail est occupé par une matrice hydratée, formant une coque située en périphérie et entre les cristallites, permettant des diffusions ioniques. L'émail se

comporte donc comme une barrière échangeuse d'ions. Cependant, si les échanges et diffusions ioniques impliquent la présence d'une coque d'hydratation, ils présupposent aussi une surface cristalline réactive et l'organisation des ions au sein du cristal permettant la formation de tunnels de différentes tailles. Il faut prendre en compte aussi des variations de composition entre la surface et la profondeur de l'émail, un certain nombre d'ions étant plus concentrés dans la zone de subsurface que dans le reste de l'émail. On note jusqu'à 2,2% de différence en poids et 5,7% de différence en volume entre la surface et la profondeur de l'émail. Des variations se produisent aussi entre le bord libre ou la table occlusale de la dent, soumis au processus d'attrition, dont les couches superficielles sont éliminées graduellement, et la zone cervicale qui s'enrichit des apports de la plaque bactérienne exogène, des diffusions provenant de la pellicule exogène salivaire et des apports nutritionnels. Ces variations sont aussi liées à l'âge (Goldberg 2008).

#### *1.2.3.2. Eau libre et eau liée (3%)*

L'eau libre est présente dans l'émail chauffé jusqu'à 200°C (0,56-1,48% pour l'émail des dents permanentes et 3% pour l'émail des dents déciduales). L'eau libre est présente surtout dans les espaces intercrystallins. L'eau liée disparaît après chauffage entre 200 et 400°C. Elle contribue à la formation d'une coque protéinique autour (à la surface) des cristallites (Goldberg 2008).

#### *1.2.3.3. Phase organique (1%)*

La matrice impliquée dans l'amélogénèse a fait l'objet de nombreuses études. Celle de l'émail mature n'a pas été autant explorée. La matrice organique chute de façon spectaculaire, passant de 20% dans l'émail transitoire non déshydraté à 1,8% dans l'émail en maturation et bien moins encore dans l'émail mature (0,6%). La distribution des protéines va également évoluer entre le stade initial et le stade mature (Goldberg 2008). Les protéines extraites de l'émail dentaire humain mature regroupent une ou deux glycoprotéines. Leur teneur en hydrates de carbones est de 15%. Les sucres entrant dans leur composition, identifiés par chromatographie en phase gazeuse, sont le glucose, le galactose, le mannose et le fucose. Ils interviennent respectivement dans ces glycoprotéines selon un ratio moléculaire de 9:4:3:1 (Belcourt et Gillmeth 1979).

**L'émail est un tissu acellulaire unique chez les vertébrés, formé de prismes et de substance interprismatique. Ses prismes sont constitués de cristaux d'hydroxyapatites. Il se compose de 92 à 96% de matière minérale, de 3% de plasma (eau) et de 1% de matière organique. Les cellules épithéliales responsables de sa formation sont les améloblastes. Lors de la phase sécrétoire, impliquant des protéines et une matrice organique, un émail partiellement minéralisé se forme. Le stade de maturation complète la minéralisation de l'émail. Cette séquence ordonnée implique que toute altération génétique ou systémique de l'amélogénèse va laisser une empreinte dans l'architecture minérale de l'émail, dont la spécificité permettra d'identifier le processus cellulaire affecté. Les dents touchées permettront donc un diagnostic rétrospectif de l'évènement tératogène. Pour chaque dent, l'émail se forme pendant un laps de temps donné.**

## 2. Les hypominéralisations de l'émail : revue critique de la littérature

---

L'émail de la dent est formé pendant une période définie de développement. Les améloblastes, cellules sécrétrices qui produisent l'émail dentaire, sont particulièrement sensibles aux changements de leur environnement au cours de l'amélogénèse. Un dysfonctionnement des améloblastes peut se produire, entraînant des changements dans l'aspect de l'émail. Ces défauts de développement de l'émail (DDE) peuvent comprendre de légères anomalies de la couleur de la dent à une absence complète de l'émail.

### 2.1. Terminologie

D'après Sarnat et Schour (1941), l'un des premiers essais portant sur les défauts de l'émail date de 1743 et s'intitule « *Essay sur les maladies des dents* ». Cet essai a été rédigé par un chirurgien-dentiste français, Robert Bunon, lorsque le rachitisme, la rougeole et le scorbut étaient associés à l'*érosion* des dents (Bunon 1743).

En 1916, le terme d'*émail tacheté* a été adopté par Black et McKay cités par Smith (1916) pour décrire l'apparence de dents considérées comme une forme endémique d'un défaut de l'émail. Ce n'est qu'en 1931 que le fluor est incriminé comme agent causal de ces défauts d'émail tacheté (Churchill 1931).

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle, des colorations de l'émail dues à une hypominéralisation amélaire ont été décrites dans des populations actuelles sous le terme : *opacités blanches de l'émail* (Bhussry 1958). Les principaux termes utilisés dans les études publiées pour décrire les défauts de l'émail pouvant s'apparenter à des HMI sont indiqués dans le Tableau 1. Certains sont des termes cliniques descriptifs simples, tandis que d'autres font références à l'agent causal ou à l'histopathologie du défaut. Cependant, la majorité de ces termes sont non spécifiques et souvent ambigus.

<b>Terminologie</b>	<b>Traduction</b>	<b>Auteurs</b>
<b>Mottled enamel</b>	Émail tacheté	Black et McKay (1916) cités par (Smith 1916)
<b>Developmental opacities</b>	Opacités du développement	(Hurme 1949)
<b>Idiopathic or nonfluoride opacities</b>	Opacités idiopathiques ou non liées au fluor	(Zimmermann 1954)
<b>White opaque enamel</b>	Opacité blanche de l'émail	(Bhussry 1958)
<b>Non-endemic mottling of enamel</b>	Tache de l'émail non-endémique	(Jackson 1961)
<b>Developmental hypomineralization</b>	Hypominéralisation du développement	(Kostlan et Plackova 1962)
<b>Demarcated opacities</b>	Opacités délimitées	(FDI 1982)
<b>Idiopathic enamel hypomineralization in permanent teeth</b>	Hypominéralisation idiopathique de l'émail des dents permanentes	(Koch <i>et al.</i> 1987)
<b>Enamel opacities</b>	Opacités de l'émail	(Suckling 1989)
<b>Cheese molar</b>	Molaire gruyère	(van Amerongen et Kreulen 1995)
<b>Enamel hypomineralization of permanent first molars</b>	Hypominéralisation de l'émail des premières molaires permanentes	(Jalevik et Noren 2000)
<b>Molar incisor hypomineralisation (MIH)</b>	Hypominéralisation Molaire-Incive (HMI)	(Weerheijm <i>et al.</i> 2001)

Tableau 1. Terminologie des défauts de l'émail pouvant s'apparenter à des HMI.

Grâce aux efforts de la commission chargée de la santé bucco-dentaire, de la recherche et de l'épidémiologie appartenant à la FDI, une classification universelle s'appuyant sur le *Developmental Defect of Enamel index* (indice de défaut de développement de l'émail ou DDE index) a été établie (FDI 1982). Le *modified DDE index* (DDE modifié) est proposé par Clarkson (1992) afin de simplifier l'utilisation de cet indice. Ce nouvel indice intègre l'émail sain, les opacités délimitées de l'émail, les opacités diffuses et les hypoplasies de l'émail. Parmi celles-ci, les opacités délimitées de l'émail ont été séparées en 2 sous-groupes en fonction de leurs couleurs : blanche-crème et jaune-brune. Plusieurs termes ont été employés au fil des années pour définir ce type de défauts sur les premières molaires permanentes tels que les

*hypominéralisation idiopathique de l'émail des dents permanentes* (Koch *et al.* 1987), les *Molaires gruyères* (van Amerongen et Kreulen 1995), les *hypominéralisations non liées au fluor* (Leppaniemi *et al.* 2001). Bien que les dénominations diffèrent, la description clinique du phénomène est similaire. Les défauts variaient entre des opacités délimitées de couleur jaune-blanche ou jaune-brune à des défauts plus sévères avec des fractures de l'émail sévèrement hypominéralisé. Ce n'est qu'en 2001 que le terme *Molar Incisor Hypomineralisation* est proposé par la communauté scientifique pour décrire ce type de défaut spécifique aux premières molaires permanentes (Weerheijm *et al.* 2001).

## 2.2. Caractéristiques cliniques des HMI

En 2002, à la suite du 6<sup>ème</sup> congrès de l'Académie européenne de dentisterie pédiatrique (EAPD), le terme *Molar Incisor Hypomineralisation* et l'acronyme *MIH* proposés par Weerheijm *et al.* (2001) sont validés et font désormais consensus. Un groupe de travail se réunira un an après afin d'établir des critères de diagnostic précis des HMI (Weerheijm *et al.* 2003).

### 2.2.1. Critères de diagnostic

Une HMI se caractérise par :

\**Une opacité délimitée* correspondant à un défaut limité impliquant une modification de degré variable de la translucidité de l'émail. L'émail défectueux est d'épaisseur normale avec une surface lisse pouvant être de couleur blanche, beige ou jaune-brune (Figure 7) (Weerheijm *et al.* 2003, Chawla *et al.* 2008).

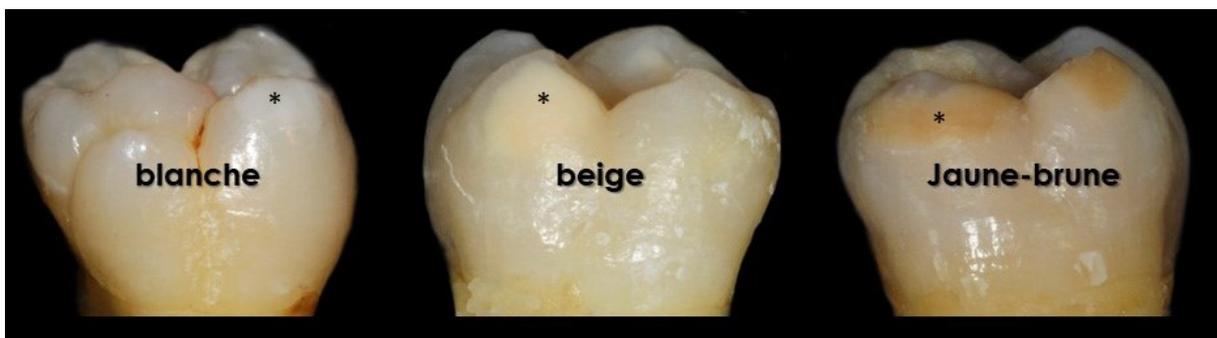
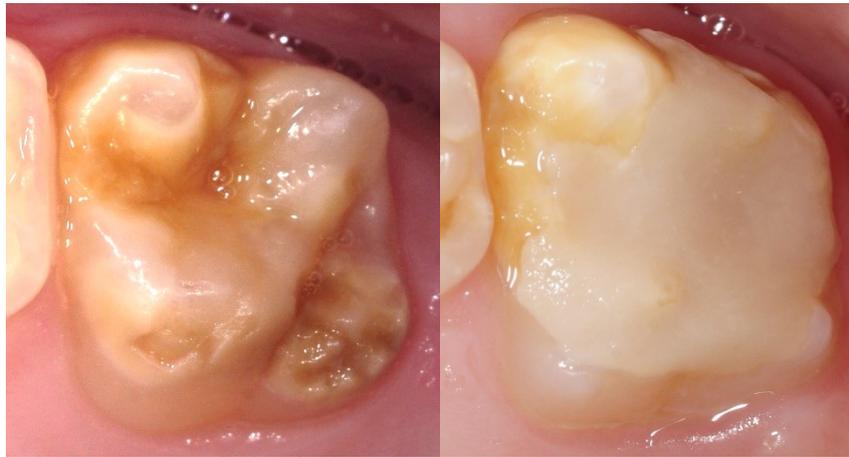


Figure 7. Opacités délimitées de l'émail issues de dents actuelles : opacité blanche sur une PMP maxillaire gauche (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France), opacités beige sur une PMP maxillaire gauche et opacité jaune-brune sur une PMP maxillaire droite (Melbourne dental school, Australie).

\**Une fracture post-éruptive* de l'émail correspondant à une perte localisée de la surface de l'émail initialement formé, se produisant après l'éruption de la dent (Figure 8). La perte est

souvent associée à une opacité préexistante délimitée (Weerheijm *et al.* 2003). Il est nécessaire de noter que ce n'est pas forcément suite à la mise en occlusion de la dent que l'émail se clivera. Les pressions masticatoires ne sont donc pas seulement incriminées (Weerheijm *et al.* 2001).



**Figure 8.** Photographie de gauche : fracture post-éruptive de l'émail d'une première molaire permanente maxillaire gauche. Photographie de droite : restauration atypique sur une première molaire permanente maxillaire gauche (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

*\*Une restauration atypique* correspondant à une forme de restauration inhabituelle. Elle présente fréquemment un volume important. Dans la plupart des cas, il y aura des restaurations étendues aux surfaces saines vestibulaire, palatine, ou proximales sur les premières molaires permanentes. A la frontière des restaurations, une opacité peut être souvent remarquée (Figure 8). Sur les incisives permanentes, une restauration vestibulaire non liée à un traumatisme peut parfois se remarquer dans les cas les plus sévères. Elles traduisent le désarroi du chirurgien-dentiste amené à refaire la restauration plusieurs fois suite à des échecs, essentiellement liés à l'adhésion minorée sur les tissus hypominéralisés (William *et al.* 2006a, Rouas *et al.* 2010).

*\*Une molaire extraite en raison d'une HMI* (Weerheijm *et al.* 2003). Des restaurations atypiques sur des premières molaires permanentes ou l'absence d'au moins une première molaire permanente peuvent permettre de poser l'hypothèse d'une atteinte dentaire préalable par une HMI. La disparition des premières molaires permanentes au sein d'une denture saine, conjuguée à un faible risque carieux, avec ou sans opacités délimitées sur les incisives permanentes, nous pousse à nous interroger sur les raisons de ce défaut. Dans les études de prévalence, ces éléments font que les résultats obtenus peuvent être minorés (Rouas *et al.* 2010).

### **2.2.2. Critères de sévérité**

Des critères de sévérité pour cette pathologie ont également été décrits lors de ce congrès en se basant sur les critères fournis par Alaluusua *et al.* (1996a). En 2008, des auteurs

développent un indice de sévérité prenant en compte l'état d'éruption, la couleur du défaut (blanche, jaune ou jaune-brune), la fracture post-éruptive de l'émail, la sensibilité dentaire, le nombre de restaurations et leur éventuel caractère atypique (Chawla *et al.* 2008). Plus récemment, des auteurs ont enregistré les précédents paramètres et défini des barèmes de scores en fonction de la sévérité (légère, modérée et sévère). En fonction de ce classement, des plans de traitement différents sont recommandés (Oliver *et al.* 2013). Un paramètre de localisation du défaut à la surface de la dent a été ajouté à ceux de Chawla *et al.* (2008) : aux niveaux des surfaces lisses (c'est-à-dire au niveau des 2/3 cervicaux), de la surface occlusale (1/3 supérieur), ou des cuspides (Oliver *et al.* 2013).

Le degré *léger* correspond à une opacité délimitée de l'émail sans fracture de l'émail, avec des sensibilités occasionnelles suscitées par exemple par l'air ou par l'eau mais pas par le brossage (Chawla *et al.* 2008). Seuls de légers soucis esthétiques sont dus aux opacités inconstantes des incisives permanentes (Figure 9).

Le degré *modéré* correspond à une perte d'émail, sans clivage ou lésion dentinaire (Figure 9) (Chawla *et al.* 2008).

Dans les cas *sévères*, il y a une opacité délimitée de l'émail associée à une fracture, une lésion carieuse, et/ou une hypersensibilités spontanées ou persistantes (Figure 9). On constate également de fortes conséquences esthétiques qui peuvent avoir des répercussions psychologiques et sociales (Chawla *et al.* 2008).



Figure 9. Sévérité des défauts de type HMI (de gauche à droite : léger, modéré et sévère) issus de dents actuelles avec de gauche à droite : une PMP maxillaire gauche, une PMP mandibulaire droite et une PMP maxillaire droite (Melbourne dental school, Australie).

### 2.2.3. Répartition des défauts sur la surface des dents

Les opacités délimitées blanches-beiges constituent le type de lésion le plus fréquent. Les enfants avec 3 dents affectées ou plus sont 3,7 fois plus susceptibles de présenter des fractures amélaire par rapport à ceux n'ayant qu'une seule ou deux dents affectées (Martinez Gomez *et al.* 2012). La gravité des lésions augmente avec le nombre de dents touchées. Plus le défaut est sévère, plus la surface impliquée paraît importante. Aucune différence significative n'a été trouvée entre les côtés droit et gauche de la bouche (Ghanim *et al.* 2011). La plupart des défauts sont d'intensité légère (44%). La gravité augmente avec l'âge et apparaît liée au nombre de dents atteintes ( $p < 0,05$ ). Les PMP des individus pour lesquels au moins une incisive permanente est également touchée sont plus sévèrement atteintes (Zawaideh *et al.* 2011). Les zones hypominéralisées sont localisées généralement au niveau du 1/3 occlusal alors que le 1/3 cervical est rarement atteint (Jalevik et Noren 2000).

Dès 2001, la présence d'opacités sur les molaires déciduales, les secondes molaires permanentes ou les canines permanentes a été évoquée (Weerheijm *et al.* 2001, Elfrink *et al.* 2008). En 2012, Elfrink *et al.* proposent le terme *deciduous molars hypomineralisation* (dont l'acronyme est DMH) et le définissent comme étant des hypominéralisations des secondes molaires déciduales (Elfrink *et al.* 2012). L'EAPD choisira de définir ce type de défaut par le terme *hypomineralised second primary molars* dont l'acronyme est HSPM (Elfrink *et al.* 2015). La présence d'HSPM constituerait un facteur prédictif de HMI sans pour autant qu'un lien statistiquement significatif n'ait pu être établi (Elfrink *et al.* 2012).

## 2.3. Caractéristiques anatomopathologiques des HMI

Suite à une revue de la littérature des différentes études portant sur l'analyse des défauts liés à des hypominéralisations molaire-incisive, il semblerait qu'un grand nombre de travaux se soient intéressés à l'étude de la microdureté de ces défauts. *A contrario*, un nombre relativement faible d'études a entrepris d'étudier la microstructure et la composition de ces anomalies de l'émail. Nous avons réparti les données relatives à ces travaux dans quatre tableaux selon le type d'analyse : « qualitative », « dureté et module d'élasticité », « densité minérale » et « composition chimique de ces défauts » (Tableaux 2-5). L'une des caractéristiques majeures des HMI est que le défaut amélaire débute à la JED (Figure 10) et se dirige vers la surface de l'émail (Fearne *et al.* 2004, Farah *et al.* 2010b).

Les analyses de la microstructure de l'émail sain et de l'émail hypominéralisé ont montré deux changements dans la microstructure de la région affectée par l'HMI :

- une structure des prismes d'émail moins dense avec des cristaux d'apatites non tassés,
- un élargissement de la gaine prismatique (Tableau 2).

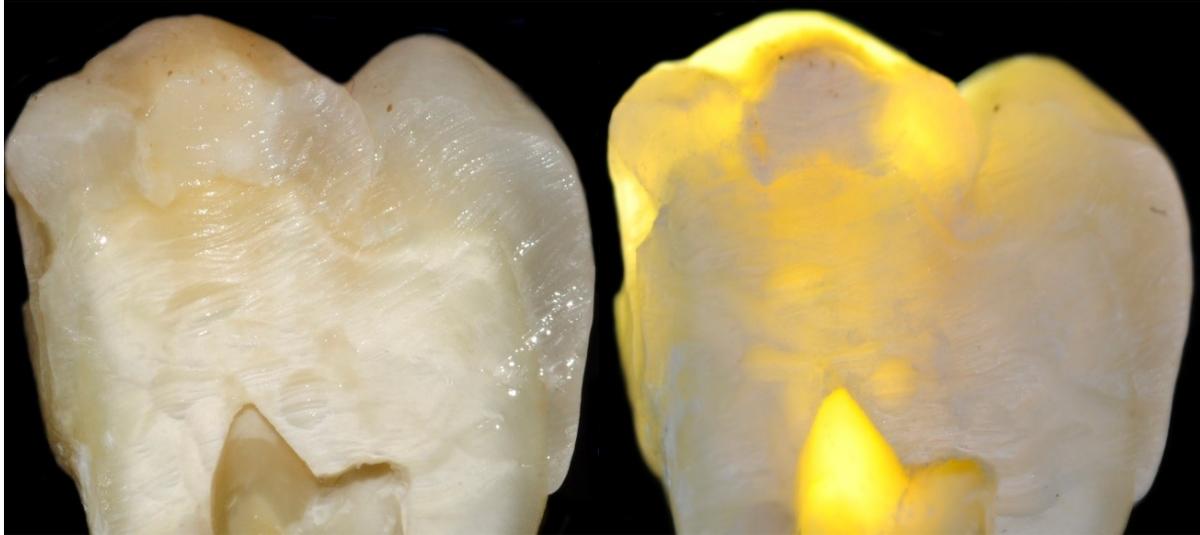


Figure 10. Coupe transversale d'un défaut de type HMI beige en lumière naturelle (à gauche) et sous transillumination (à droite) d'une PMP maxillaire droite actuelle (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

Ces changements semblent se produire au cours de la maturation de l'émail et peuvent expliquer la diminution de la dureté et du module d'élasticité de l'émail affecté (Fagrell *et al.* 2010) (Tableau 3). Par ailleurs, l'émail dans la zone de transition adjacente aux défauts HMI présente également des modifications notables dans la gaine des prismes. Malgré l'apparence clinique translucide et normale de la zone de transition entre les régions affectées et non affectées des dents présentant une HMI, les gaines prismatiques sont affaiblies ce qui compromet ses propriétés mécaniques globales (Chan *et al.* 2010). Ceci serait lié au manque d'organisation des cristaux d'émail, à l'assemblage des cristaux moins serrés et moins bien organisés dans les parties poreuses (Mahoney *et al.* 2004). Les analyses semi-quantitatives par spectroscopie X à dispersion d'énergie de dents présentant une HMI ont montré que les concentrations en minéraux de ce type d'émail sont plus faibles (Jalevik *et al.* 2001b). En moyenne, la densité minérale est environ 18% plus faible que celle de l'émail sain (Tableau 4). Les concentrations chimiques des différents éléments contenus dans l'émail sain et l'émail hypominéralisé varient selon les études (Tableau 5). Ainsi, nous ne pouvons raisonnablement pas comparer les ratios Ca/P et Ca/C dans ces deux types d'émail.

L'émail hypominéralisé a une teneur en protéines sensiblement plus élevée que l'émail normal, mais une concentration d'amélogénines résiduelles proche de la normale. Cette caractéristique distingue les défauts de type HMI de défauts de type hypomature rencontrés par exemple dans l'un des phénotypes d'amélogénèses imparfaites contenant des amélogénines résiduelles élevées (Mangum *et al.* 2010). Les HMI seraient dues à une perturbation pré-éruptive de la minéralisation probablement due à une surabondance de l'albumine qui interfère avec le processus de minéralisation. Cela peut expliquer les porosités de la subsurface de l'émail hypominéralisé car la dégradation de l'albumine est une condition préalable à la croissance cristalline maximale durant le stade de maturation de l'émail (Farah *et al.* 2010a, Mangum *et al.* 2010). La présence excessive d'albumine semble promouvoir le facteur KLK4 dont l'inactivité conduit à un émail avec une teneur en protéines élevée et une teneur minérale réduite. Un indicateur de la sévérité des HMI est la teneur en matières organiques réelle de son émail. Les opacités d'émail de couleur brune (aspect le plus sévère des HMI) ont la teneur en protéines la plus élevée, correspondant à un niveau 15 à 21 fois plus élevé que l'émail sain. Les teneurs en protéines des opacités d'émail blanches et jaunes sont 8 fois plus élevées que l'émail sain (Farah *et al.* 2010a). De plus, la capacité de l'émail dentaire à absorber l'énergie de déformation et à se maintenir sans rupture est attribuée aux couches viscoélastiques des protéines. Ainsi, la variation de la teneur en protéines dans les dents présentant une HMI provoquerait la fracture de l'émail quand il est par exemple soumis aux forces de mastication (Farah *et al.* 2010a).

Articles	Techniques	Dent HMI (n)	Dent contrôle (n)	Émail désorganisé	Limites distinctes / émail sain
Jalevik <i>et al.</i> , 2000	POLMI	73	2	oui	oui
Mahoney <i>et al.</i> , 2004	MEB	3	2	oui	aucune donnée
Jalevik <i>et al.</i> , 2005	MEB	10	0	oui	oui
Xie <i>et al.</i> , 2007, 2008	FESEM/FIB	3	4	oui	aucune donnée
Chan <i>et al.</i> , 2010	MEB	2	0	oui	non
Fagrell 2011, ( <i>et al.</i> ) 2010	MEB	13	0	oui	oui
	LM	5			
Fagrell 2011, ( <i>et al.</i> ) 2013	stereo	13	0	oui	oui
	POLMI				
Crombie <i>et al.</i> , 2013	MEB	15	0	oui	aucune donnée
Jedon <i>et al.</i> , 2013	MEB	10	non spécifié	oui	aucune donnée

**Tableau 2.** Études incluses dans la revue de la littérature portant sur les propriétés morphologiques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats. n : effectif, LM : microscope optique, POLMI : microscope en lumière polarisée, MEB : microscope électronique à balayage et FIB / FESEM : microscope électronique à faisceau d'ions focalisés et balayage en champ d'émission.

Articles	Méthodes et indenteur	Dents HMI (n)	Dureté/GPa			Module d'élasticité/GPa		
			Dents témoins	Émail sain de dents HMI	Émail affecté	Dent témoin	Émail sain de dents HMI	Émail affecté
Mahoney <i>et al.</i> , 2004	UMIS et Berkovich indenteur	8	3,2±0,16	3,66±0,75	<b>0,53±0,31*</b>	75,57±9,98	77,25±3,15	<b>14,49±7,56*</b>
Xie <i>et al.</i> , 2007	UMIS et Berkovich indenteur	1	supérieur	-	inférieur	supérieur	-	inférieur
Farah <i>et al.</i> , 2008	UMIS et Berkovich indenteur	5	-	aucun chiffre	aucun chiffre <b>inférieur*</b>	-	aucun chiffre	aucun chiffre <b>inférieur*</b>
Chan <i>et al.</i> , 2010	Nanoindentation et Berkovich indenteur	2	-	-	-	60±4	-	<b>16±8*</b>
Fagrell <i>et al.</i> , 2010, 2011	Microindentation et Vickers indenteur (Leica miniload)	4	-	3,439	erreur donnée	-	-	-
Crombie <i>et al.</i> , 2013	Microhardness testeur et Vickers indenteur (Leica miniload)	aucune donnée	4,4±1	4,4±1	<b>1,8±1,1*</b>	-	-	-

Tableau 3. Études incluses dans la revue de la littérature portant sur les propriétés mécaniques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats (\* : p<0,05). n : effectif, UMIS : système à ultra-micro-indentation.

Articles	Méthode	Dents HMI (n)	Dents témoins (n)	Résultats
Mahoney <i>et al.</i> , 2004	BSE micrographie	3	2	Réduction de DM=5% dans EH
Fearne <i>et al.</i> , 2004	μCT	2	2	Réduction de DM=20% dans EH
Farah <i>et al.</i> , 2010 (b,c)	μCT	10	10	Réduction de DM=19% dans EH
Fagrell 2011, ( <i>et al.</i> ) 2013	μCT	4	-	Réduction mais pas d'analyse statistique
Crombie <i>et al.</i> , 2013	microradiographes	15	-	Réduction de la teneur minérale de 28% dans EH

Tableau 4. Études portant sur la densité minérale (DM) de l'émail hypominéralisé (EH) et leurs résultats. BSE : électrons rétrodiffusés, μCT : microtomographie à rayons X.

Articles	Méthodes	Dents HMI (n)	Dents témoins (n)	Ca	P	C	Ca/P	Ca/C	O	F	Mg	K	Na	Cl	Sr
Jalevik <i>et al.</i> , 2001	SIMS	17	13			NS				NS	NS	NS	NS	NS	NS
	MEB/XRMA	7	5	NS	NS		INF*		NS						
Mahoney <i>et al.</i> , 2004	MEB-EDS	1	1	NS	NS		NS				NS	NS	NS		
Fagrell <i>et al.</i> , 2010, 2011	MEB/XRMA	4	12	NS	INF*	SUP*	NS	INF*	NS						
Jedeon <i>et al.</i> , 2013	MEB-EDS	10	10				INF*	INF*							

Tableau 5. Études portant sur les propriétés chimiques de l'émail hypominéralisé et leurs résultats. SIMS : spectrométrie de masse à ionisation secondaire, MEB/XRMA : microscopie électronique à balayage/Micro-analyse à rayons X, MEB-EDS : microscopie électronique à balayage avec spectroscopie à rayons X à dispersion d'énergie, INF : inférieur, SUP : supérieur, NS : différence non significative, \* : p<0,05.

## 2.4. Prévalence des HMI

Les premières données épidémiologiques proviennent d'études menées dans des pays européens et rapportent que les chiffres de la prévalence des HMI varient de 3,6 à 25% (Weerheijm et Mejàre 2003). Une revue de la littérature réalisée en 2014 a montré une grande variation de la prévalence des HMI dans le monde (2,9-44%) (Elfrink *et al.* 2015). La comparaison entre les résultats des différentes études est difficile en raison de l'utilisation de différents indices, critères de diagnostic, méthodes d'enregistrement et groupes d'âge. Le nombre d'étude s'intéressant à la prévalence des HMI ne cesse de croître. Récemment, des auteurs ont tenté de standardiser les critères de ces études épidémiologiques (Elfrink *et al.* 2015). Dans cette revue de la littérature réalisée en novembre 2014, 52 articles ont été sélectionnés. À ces chiffres de prévalence par pays nous avons ajouté ceux publiés entre novembre 2014 et juin 2017 et les avons représentés à l'aide d'un gradient de couleur sur une carte du monde (Figure 11). Au moins un pays de chaque continent est confronté à la présence des HMI, ce qui en fait un problème de santé publique mondial (Weerheijm 2008). Étonnement, pour ce grand pays que sont les Etats-Unis, aucune étude de prévalence n'a été publiée (Weerheijm 2008). Les chercheurs américains sont de plus à l'origine de nombreux travaux et publications. Dans plusieurs pays avoisinants la France tels que l'Angleterre, l'Italie ou l'Espagne, la prévalence des HMI a été estimée (Figure 11). À l'heure actuelle, aucun travail en France n'a été publié dans une revue internationale sur ce thème. Une étude réalisée dans le cadre de la thèse d'exercice en chirurgie-dentaire de Caroline Fahd (dirigée par E. Garot) est en cours à l'UFR d'odontologie de Bordeaux.

A l'heure actuelle, il semble que les HMI ne soient pas systématiquement diagnostiquées par les omnipraticiens. Les patients se présentent parfois avec un délabrement important des premières molaires permanentes, des reconstitutions atypiques, voire des premières molaires ayant été extraites. Le diagnostic peut être difficile en l'absence d'opacité identifiée. Dans le cas où les PMP sont très délabrées ou extraites avec les autres dents ne présentant aucun délabrement, on ne peut pas poser le diagnostic de HMI. Néanmoins, ce type de cas, d'autant plus si le risque carieux est faible, minorent les résultats de prévalence des HMI. Il a été montré que le risque carieux est majorée par la présence d'une hypominéralisation (Pitiphat *et al.* 2014b).

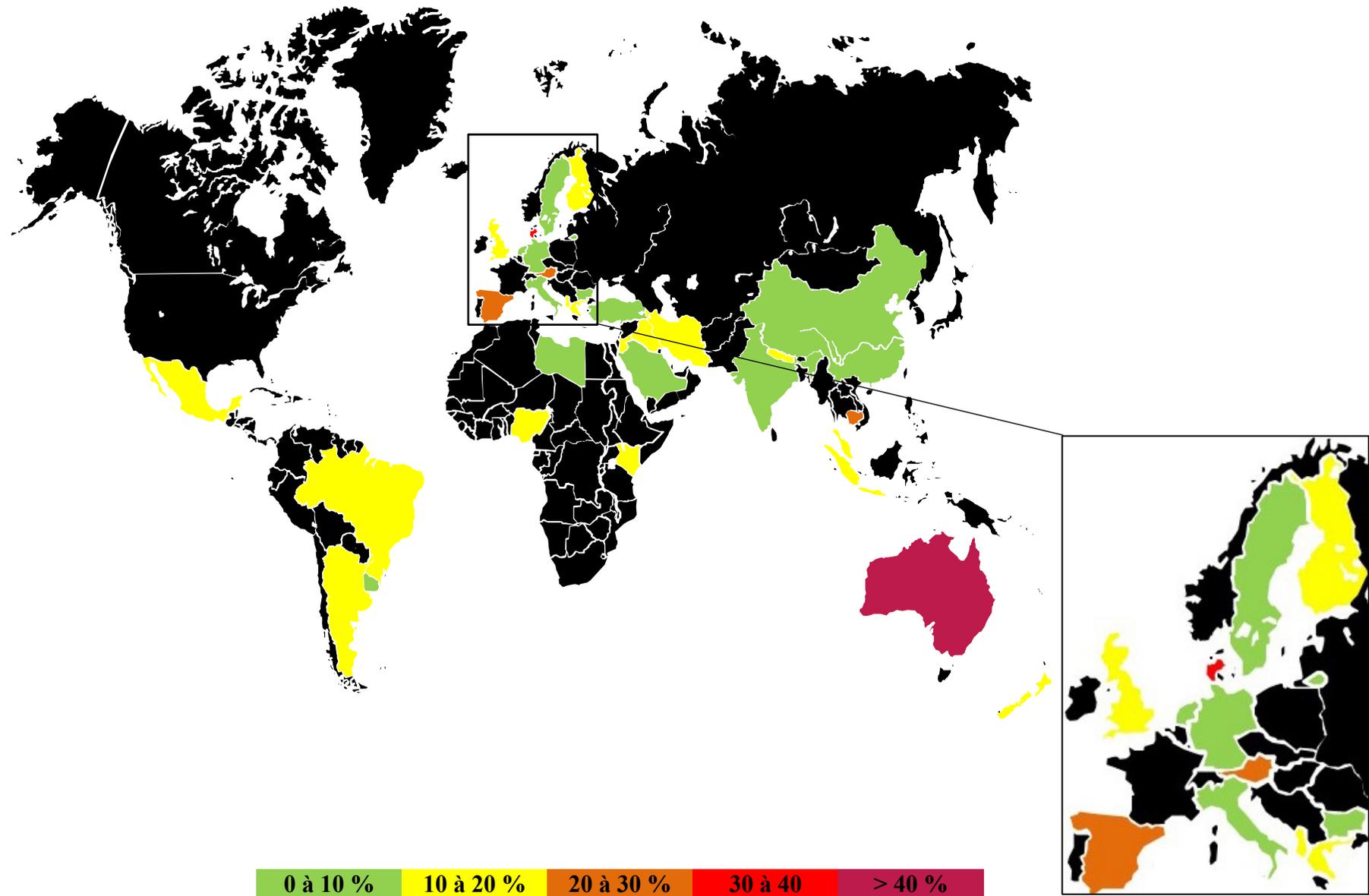


Figure 11. Répartition des prévalences des HMI en fonction des pays dans le monde.

## 2.5. Les hypothèses étiologiques des HMI

Bien que les causes des HMI restent inconnues à ce jour, la communauté scientifique s'accorde sur le fait qu'elles ne seraient pas dues à un seul facteur spécifique. Plusieurs conditions nocives réunies pourraient augmenter le risque de survenue des HMI de manière additive ou même synergique (Lygidakis *et al.* 2010). Comme nous l'avons vu précédemment (*confer* chapitre 2 §2.3) d'un point de vue histologique, les HMI correspondent à une altération de la fonction des améloblastes lors de la phase de maturation (Jalevik *et al.* 2005). Cette modification intervient entre la fin de la grossesse et l'âge de 4 ans (Lygidakis *et al.* 2008a, Whatling et Fearn 2008). Plus récemment cet intervalle a été réduit aux 6 premiers mois de vie de l'enfant (Fagrell *et al.* 2013, Jedeon *et al.* 2013). Plus d'une trentaine d'hypothèses étiologiques ont été énumérées depuis ces 10 dernières années (Annexe 1). La Figure 12 représente les hypothèses les plus fréquemment citées. Certaines sont intemporelles, d'autres sont contemporaines à notre époque. Les différentes hypothèses étiologiques peuvent être réparties sur les périodes pré-, péri- et post-natales.

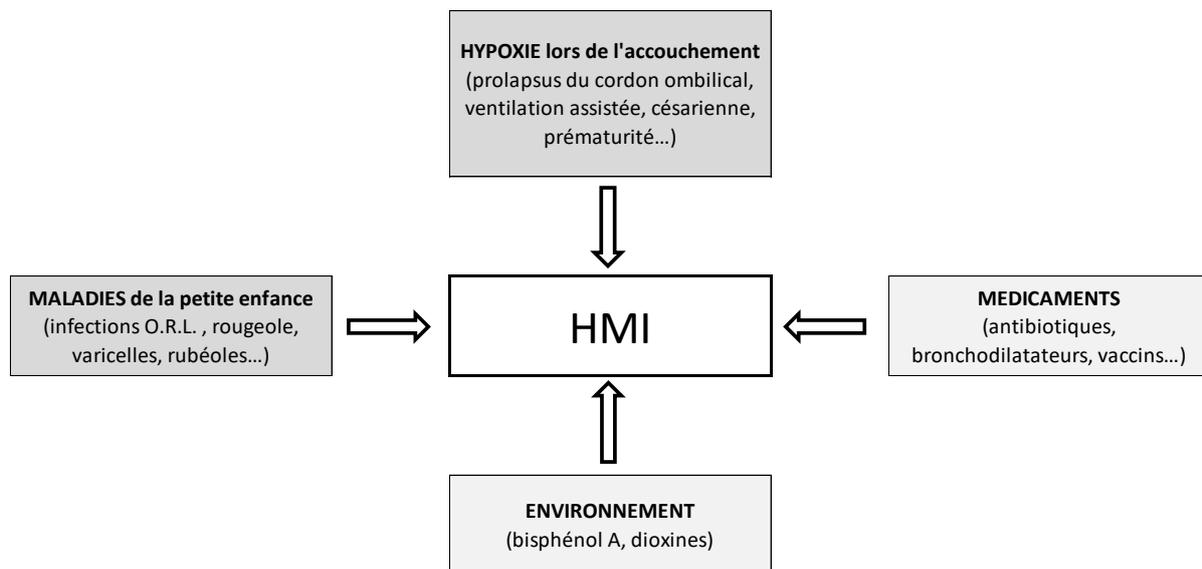


Figure 12. Hypothèses étiologiques les plus fréquemment citées dans la littérature (en gris foncé les hypothèses intemporelles et en gris clair les hypothèses contemporaines).

### 2.5.1. Période pré-natale

#### 2.5.1.1. Maladies maternelles

Aucune maladie spécifique durant le dernier trimestre n'a pu être associée aux HMI (Sonmez *et al.* 2013) mais quelques auteurs ont estimé que les problèmes médicaux seraient

plus fréquents chez les mères d'enfants atteints par une HMI (Lygidakis *et al.* 2008b, Whatling et Fearne 2008, Souza *et al.* 2012). Les maladies incluses dans les maladies maternelles en lien avec la santé du fœtus sont variées et diffèrent selon les études. Certains auteurs ont mis en évidence qu'une hypotension en lien avec une anémie occasionnait 2,5 fois plus (IC 1,30-4,81 ;  $p < 0,05$ ) de risque de développer une HMI (Ghanim *et al.* 2013).

#### 2.5.1.2. Thérapeutiques médicamenteuses maternelles

Les auteurs s'accordent à dire qu'il n'y aurait pas de corrélation entre les médicaments pris lors de la grossesse et l'apparition d'une HMI chez les enfants (Jalevik *et al.* 2001a, Weerheijm 2004, Arrow 2009, Fagrell *et al.* 2011, Souza *et al.* 2012, Ghanim *et al.* 2013, Allazzam *et al.* 2014).

#### 2.5.1.3. Tabagisme maternel

L'association entre le tabagisme maternel et les HMI a été investiguée dans six études (Alaluusua *et al.* 1996a, Arrow 2009, Fagrell *et al.* 2011, Souza *et al.* 2012, Kuhnisch *et al.* 2014a, Pitiphat *et al.* 2014a) dont trois sont des études prospectives (Alaluusua *et al.* 1996a, Fagrell *et al.* 2011, Kuhnisch *et al.* 2014a). Aucune étude n'a pu mettre en évidence un lien entre le tabagisme et la survenue des HMI (Silva *et al.* 2016).

#### 2.5.1.4. Stress

Une étude rétrospective a estimé que le stress maternel durant la grossesse pouvait influencer l'apparition des HMI (OR=3,24 [1,33-7,88]) (Ghanim *et al.* 2013). Cependant, une grande part de subjectivité dans l'évaluation de ce paramètre est à prendre en compte.

### 2.5.2. Période péri-natale

Dans la période péri-natale, différentes conditions médicales, seules ou en combinaison, peuvent affecter le bien-être d'un enfant. Différents paramètres tels qu'une naissance prématurée, un faible poids de naissance, des complications à la naissance et une naissance par césarienne ont été étudiés. La dernière revue systématique en date, réalisée en février 2015 (Silva *et al.* 2016) a comptabilisé sept études s'intéressant aux naissances par césarienne, neuf études portant sur les complications liées à la naissance de l'enfant, dix études évaluant le poids à la naissance de l'enfant et quatorze études portant sur la prématurité de l'enfant. Il a été suggéré que le facteur causal des HMI aurait pu être un déficit en oxygène (Seow 1996, Lygidakis *et al.* 2008b). L'hypoxie peut être associée à des problèmes médicaux liés à la naissance comme la prématurité, des difficultés respiratoires et la durée prolongée de l'accouchement. Les problèmes *per-partum* tels que l'hypoxie à la naissance ou une naissance

par césarienne ont été significativement associés à la survenue des HMI (Lygidakis *et al.* 2008b, Ahmadi *et al.* 2012, Ghanim *et al.* 2013, Pitiphat *et al.* 2014a, Garot *et al.* 2016a). Cependant, dans une des rares études prospectives publiées à ce jour, aucune corrélation n'a été trouvée entre les complications néonatales et les HMI (Fagrell *et al.* 2011). Les critères utilisés pour définir les complications néonatales dans cette étude n'incluent pas de critères tels que le travail prolongé (>24h), les techniques de respiration assistée et les complications lors d'un accouchement par voie basse recueillis pourtant dans la majorité des études (Lygidakis *et al.* 2008b, Ghanim *et al.* 2013, Pitiphat *et al.* 2014a). D'autres études incriminent également la prématurité (Seow 1996, Aine *et al.* 2000, Beentjes *et al.* 2002, Lygidakis *et al.* 2008b, Wogelius *et al.* 2010).

### **2.5.3. Période post-natale**

Dans le cadre de l'étude des facteurs étiologiques des HMI, la période post-natale comprend tous les événements qui vont intervenir dans la vie de l'enfant de sa naissance jusqu'à ses 4 ans (Lygidakis *et al.* 2008a, Whatling et Fearne 2008). Les facteurs étudiés sont variés et comprennent par exemple une contamination par des polluants environnementaux, une prise de médicaments ou des maladies.

#### **2.5.3.1. Perturbateurs endocriniens**

##### **➤ Polluants environnementaux**

Une exposition accidentelle à des niveaux élevés de dioxines ou de biphenyles polychlorés (BPC) dans la petite enfance a été associée à des opacités délimitées et/ou des hypoplasies de l'émail (Alaluusua *et al.* 2004, Jan *et al.* 2007). Ces études ont montré une relation dose-réponse entre l'exposition aux polluants (concentration sérique) et le développement d'anomalies de l'émail des dents permanentes. La prévalence de ces anomalies était également plus élevée chez les enfants vivant dans une zone contaminée par le BPC que dans une zone témoin en Slovénie (Jan et Vrbic 2000). Dans une étude finlandaise, une corrélation significative entre les HMI et l'exposition des enfants aux dioxines *via* l'ingestion par le lait maternel a été trouvée (Alaluusua *et al.* 1996b). Cependant, dans une étude plus récente s'intéressant à des enfants exposés à de faibles niveaux de dioxines (publication dont Satu Alaluusua est la dernière auteure), aucune corrélation n'a été trouvée (Laisi *et al.* 2008). Les auteurs expliquent ces résultats contradictoires par le fait que les concentrations en dioxines ont depuis fortement diminué tout comme la durée de l'allaitement maternel contribuant à la diminution de l'exposition totale à ces composés toxiques. Une étude turque a montré une

prévalence similaire de HMI chez les enfants vivant dans une zone urbaine polluée par les dioxines et les enfants vivant dans une zone avec une faible pollution (Kuscu *et al.* 2009).

Plusieurs expérimentations animales ont montré que les dents font partie des organes les plus sensibles aux effets des dioxines (Alaluusua et Lukinmaa 2006). La classe la plus toxique de dioxines, la 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-para-dioxine (TCDD) entraîne l'arrêt, la dégradation et/ou la suppression des protéines de la matrice dans le développement de l'émail des molaires des rats exposés *via* le lait. L'exposition au TCDD conduirait à des perturbations dans la minéralisation de l'émail (Gao *et al.* 2004).

La durée de l'allaitement maternel a été associée aux HMI dans une étude finlandaise (Alaluusua *et al.* 1996a). Ces auteurs ont suggéré que les polluants dans le lait humain pourraient être impliqués, mais les niveaux de polluants comme les dioxines dans le lait n'ont pas été mesurés. Le rôle des polluants est resté spéculatif. Ces résultats n'ont par ailleurs pas été confirmés par les autres études européennes (Jalevik *et al.* 2001a, Whatling et Fearne 2008).

### ➤ **Le bisphénol A**

Le bisphénol A (BPA) est un composé chimique qui entre dans la composition de plastiques et de résines. Il était utilisé par exemple dans la fabrication de contenants alimentaires tels que les bouteilles et les biberons. On le retrouvait également dans les films de protection à l'intérieur des canettes et des boîtes de conserves ou encore sur les tickets de caisse où il est utilisé comme révélateur. Des taux significatifs de BPA ont d'ailleurs été retrouvés dans le sang, les urines, le liquide amniotique et le placenta humains. De récentes études ont montré que ce composé industriel induit des effets néfastes sur la reproduction, le développement et le métabolisme d'animaux de laboratoire (Richter *et al.* 2007, Beronius *et al.* 2010, Rubin 2011). Il est fortement suspecté d'avoir les mêmes conséquences sur l'homme. Les dents viennent s'ajouter à la liste déjà longue des cibles du BPA. Des taches blanches pouvant s'apparenter à des lésions caractéristiques des HMI ont été observées sur des incisives de rats traités avec des perturbateurs endocriniens, dont le bisphénol A (Jedon *et al.* 2013). Par mesure de précaution, la fabrication et la commercialisation des biberons contenant du bisphénol A sont interdites depuis 2011 en Europe. Cette interdiction s'est étendue à tous les contenants alimentaires en juillet 2015 en France.

### 2.5.3.2. Médication

Une revue systématique de la littérature s'intéressant uniquement aux médicaments et à l'étiologie des HMI est parue récemment (Serna *et al.* 2016). Les médicaments qui ont été recensés dans cette revue sont les antibiotiques, les bronchodilatateurs et corticostéroïdes, les antiépileptiques, les traitements de chimiothérapies, les antiviraux, les antifongiques et les antiparasitaires. Les auteurs n'ont pas pu mettre en évidence de lien entre les différentes médications et les HMI (Serna *et al.* 2016).

#### ➤ Les antibiotiques

Certaines études établissent cependant un lien entre l'utilisation d'antibiotiques (amoxicilline, érythromycine et céphalosporine) et les HMI (Jalevik *et al.* 2001a, Beentjes *et al.* 2002, Whatling et Fearn 2008, Laisi *et al.* 2009). Laisi *et al.* (2009) ont montré que l'utilisation d'amoxicilline pendant la première année de vie augmentait le risque de survenue de l'HMI. Dans une autre étude, les HMI seraient plus fréquentes chez les enfants pour lesquels l'amoxicilline est le seul antibiotique qu'ils aient reçu au cours des 4 premières années de sa vie ; mais, ce n'est pas le cas chez les enfants ayant reçu différentes classes d'antibiotiques incluant l'amoxicilline (Whatling et Fearn 2008). Néanmoins, en 1987, une étude suédoise a montré que les enfants nés en 1970 présentaient plus d'hypominéralisations idiopathiques sur les PMP et les incisives permanentes (15,4%) que les enfants nés en 1966, 1969, 1971, 1972 ou 1974 (4,4%-7,3%) (Koch *et al.* 1987). Si l'utilisation d'antibiotiques a été incriminée, l'amoxicilline ne pouvait être en cause car il n'a été disponible en Suède qu'en 1975 (Alaluusua 2010). Cependant les propos de ce dernier sont à nuancer compte-tenu de l'origine multifactorielle probable des HMI (Weerheijm 2015).

#### ➤ Les bronchodilatateurs et corticostéroïdes

Peu d'études se sont intéressées au lien entre la prise de médicaments chez les patients asthmatiques et une atteinte par l'HMI. Seuls quelques auteurs ont pu mettre en évidence un lien possible (Guergolette *et al.* 2009).

### 2.5.3.3. Maladies de la petite enfance

Des maladies de la petite enfance telles que l'otite moyenne (Beentjes *et al.* 2002), la pneumonie (Jalevik *et al.* 2001a, Beentjes *et al.* 2002), les infections des voies urinaires (Tapias-Ledesma *et al.* 2003) ou encore la varicelle (Whatling et Fearn 2008) ont été positivement associées aux HMI, bien que des résultats controversés existent concernant certaines maladies spécifiques (Jalevik *et al.* 2001a, Whatling et Fearn 2008). D'après la dernière revue

systematique en date, les maladies de la petite enfance constitueraient les seuls facteurs à être positivement associés aux HMI (Silva *et al.* 2016).

L'un des symptômes habituels des maladies infantiles infectieuses est la fièvre. Par conséquent, son rôle est difficile à distinguer de celui de la maladie elle-même. Toutefois, dans une étude expérimentale, il a été possible de montrer qu'un pyrogène exogène, la térébenthine, a induit une hypominéralisation de l'émail des incisives chez le rat (Tung *et al.* 2006).

Il est important de noter qu'il n'est pas possible de savoir si ce sont les maladies infantiles (avec notamment les fièvres) ou bien les traitements (le plus souvent des traitements antibiotiques) qui constitueraient un facteur causal ou si ce sont les deux qui seraient impliqués.

#### 2.5.3.4. Pathologies générales et troubles métaboliques

Un grand nombre de pathologies ont été citées telles que le diabète, l'épilepsie, l'asthme, l'allergie, l'insuffisance rénale, les atteintes neurologiques, le lymphome, le syndrome néphrotique, les maladies coliques... sans qu'il n'y ait pour autant d'étude clinique réalisée (William *et al.* 2006b, Crombie *et al.* 2009, Kuhnisch *et al.* 2014a, Silva *et al.* 2016).

La fixation du calcium et du phosphate peut être perturbée par des troubles tels que : les affections rénales chroniques, les diarrhées, une fièvre élevée, la malnutrition, la malabsorption, la maladie cœliaque et les hyperparathyroïdies (Rasmusson et Eriksson 2001). Le phosphate, le calcium et la vitamine D participent à la minéralisation dentaire. L'hypocalcémie peut être associée à plusieurs situations telles que le diabète maternel, une carence en vitamine D durant la période pré-natale et/ou péri-natale et la prématurité. Récemment, des auteurs ont montré que l'augmentation de la concentration en vitamine D sérique était significativement associée à une diminution du nombre de HMI (Kuhnisch *et al.* 2015).

#### 2.5.3.5. Génétique et épigénétique

A l'heure actuelle, il n'existe pas de consensus sur l'existence d'une composante génétique dans le développement des HMI, composante qui rendrait l'individu plus sensible aux conditions environnementales. La comparaison de jumeaux, qui sont monozygotes ou dizygotes, peut indiquer l'importance relative de la génétique. Cependant, les jumeaux sont également susceptibles d'avoir plus de problèmes dans la période néonatale (Lygidakis *et al.* 2010). Des auteurs ont étudié le SNP (polymorphisme d'un seul nucléotide) dans un groupe d'individus atteints ou non de HMI. Le SNP correspond à la variation (polymorphisme) d'une

seule paire de bases du génome. Ce SNP est à la base de la susceptibilité de notre espèce à certaines maladies comme par exemple la drépanocytose. L'association génétique entre le SNP rs3790506 (TUFT1) et le SNP rs946252 (AMELX) et les HMI a été investiguée mais aucune association entre ces SNP et les HMI n'a pu être mise en évidence (Jeremias *et al.* 2013). Dans une étude ultérieure, ces mêmes auteurs ont établi un lien entre le SNP rs5979395 du gène AMELX (Xq22) et les HMI (P=0,006, OR=11,7) (Jeremias *et al.* 2016). De plus, 97% des sujets atteints de HMI portent l'allèle rs5979395\*G (Jeremias *et al.* 2016). D'autres auteurs ont identifié le locus rs13058467 localisé près du gène SCUBE1 sur le chromosome 22 (p<3,72E-7) comme un possible locus en lien avec les HMI (Kuhnisch *et al.* 2014b). SCUBE1 jouerait un rôle important dans le développement de la région crânio-faciale et le développement des germes dentaires mais son rôle reste à l'heure actuelle pas entièrement compris.

Plus récemment, une prédisposition génétique et l'influence épigénétique de certains facteurs ont également été incriminées (Jeremias *et al.* 2013, Vieira et Kup 2016). L'épigénétique décrit la manière dont les interactions gène-environnement et gène-gène forment un phénotype au cours du développement. En d'autres termes, il est possible que des facteurs systémiques distincts influencent la fonction de la protéine (Kuhnisch *et al.* 2014b). L'un des exemples les plus fréquemment cités pour illustrer l'influence de l'épigénétique est l'œuf de tortue qui, en fonction de la température, peut donner un mâle ou une femelle. La détermination du sexe, l'utilisation des gènes codant soit pour l'un soit pour l'autre, dépend donc d'un phénomène épigénétique.

## 2.6. Les diagnostics différentiels *ante-mortem* des HMI

Les HMI se caractérisent par une coloration de l'émail allant de blanche-beige à jaune-brune. Toutes les colorations amélaire avec ou sans défaut quantitatif d'émail vont donc constituer des diagnostics différentiels des HMI. Historiquement, les colorations dentaires ont été classifiées selon la localisation de la coloration, qui peut être soit intrinsèque soit extrinsèque (Addy et Moran 1995). Une autre catégorie peut également être envisagée à savoir les *taches internes* (Watts et Addy 2001). Avant d'exposer les différents diagnostics différentiels des HMI, il nous paraît primordial de comprendre pourquoi l'émail défectueux apparaît coloré à l'œil nu et en quoi il peut être distingué de la pigmentation de l'émail par incorporation de substances colorées exogènes.

### 2.6.1. Colorations de l'émail défectueux et propriétés optiques

Les lois de l'optique indiquent que s'il existe une différence d'indice de réfraction entre deux phases, il y a apparition d'une interface provoquant la déviation du rayon incident. Dans le cas de l'émail sain, son indice de réfraction (IR) est identique à celui de l'hydroxyapatite (IR=1,62) (Denis *et al.* 2013). Dans l'émail sain, le rayon lumineux traverse son épaisseur sans modification de la trajectoire jusqu'à atteindre la JED où il sera alors dévié et réfléchi (Figure 13).

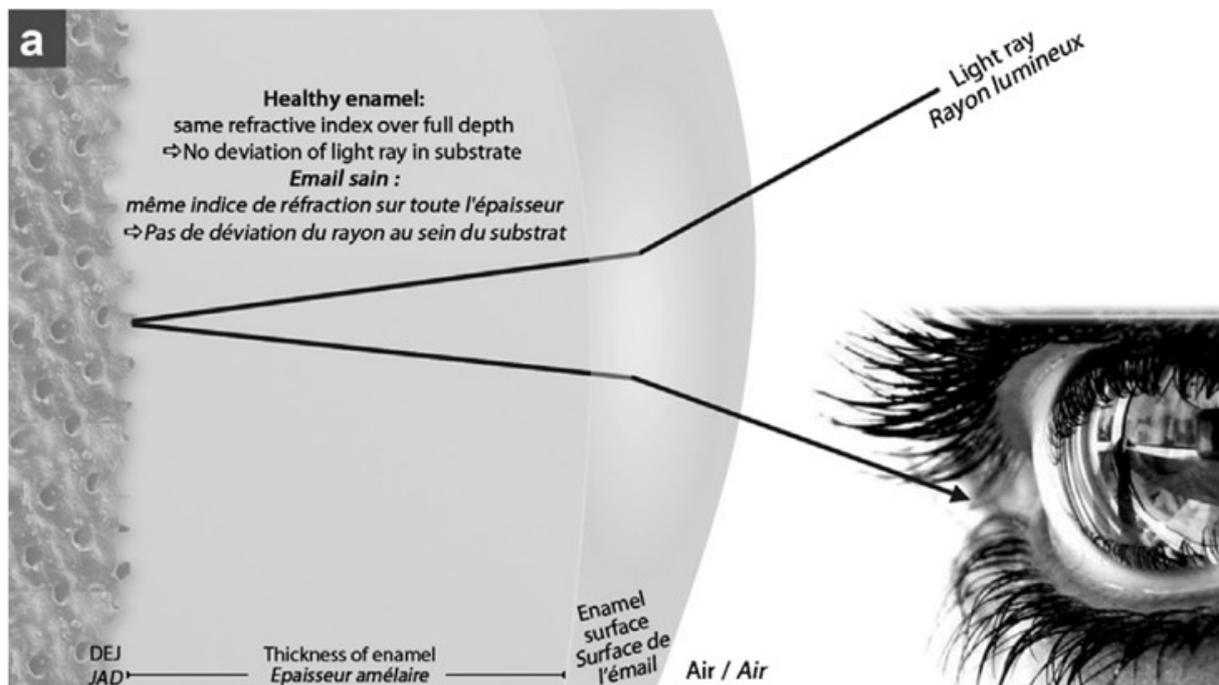


Figure 13. Influence des règles d'optique sur la teinte de la dent. L'émail sain de par sa composition a un indice de réfraction unique correspondant à celui de l'hydroxyapatite (IR=1,62) d'après Denis *et al.* (2013).

Lorsqu'un défaut de l'émail existe, le rayon lumineux rencontre de multiples interfaces *fluide organique/minéral* d'indices de réfraction différents respectivement 1,33 et 1,62 (Figure 14). À chaque interface, le rayon est dévié et réfléchi, s'emprisonnant dans un « labyrinthe optique » trop lumineux et perçu comme blanc (Denis *et al.* 2013).

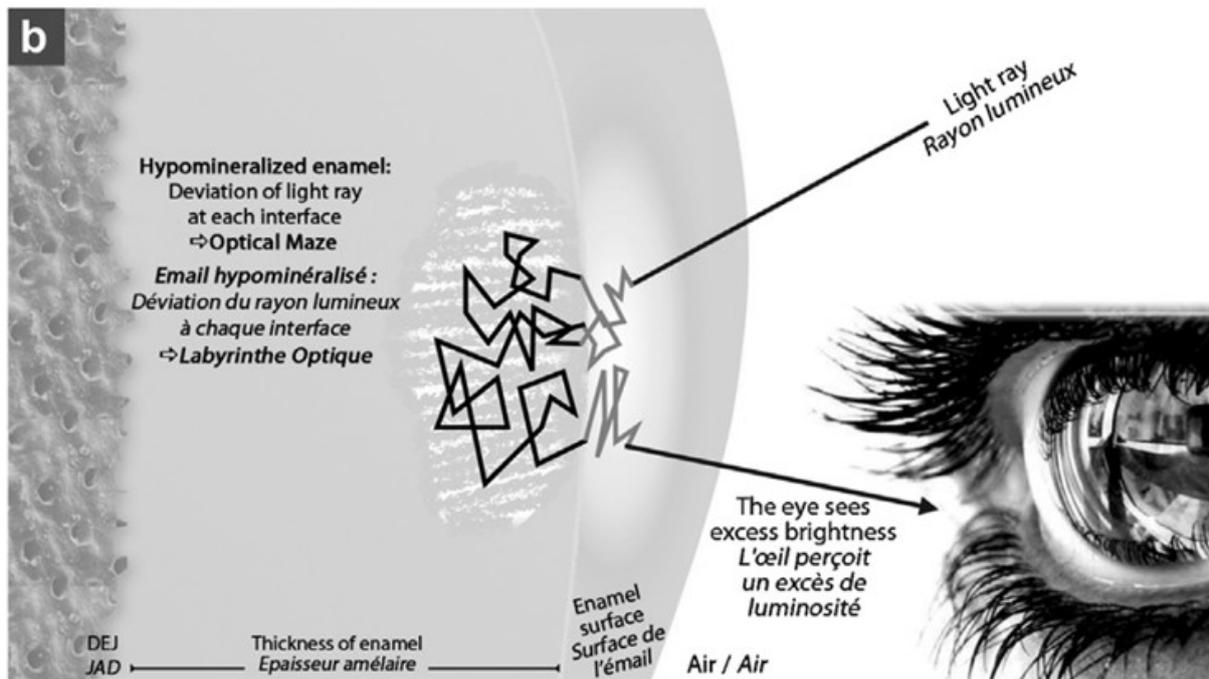


Figure 14. Influence des règles d'optique sur la teinte de la dent. Au sein de l'émail hypominéralisé, les multiples changements d'indices de réfraction provoqués par les changements de phases fluide/hydroxyapatite sont responsables de l'apparition d'interfaces au sein de l'émail. A chaque interface le rayon est dévié et réfléchi provoquant une perception de tache blanche à l'œil, d'après (Denis *et al.* 2013).

### 2.6.2. Facteurs intrinsèques

Les colorations intrinsèques sont le résultat d'une modification de la structure, de la composition ou de l'épaisseur des tissus dentaires durs. Plusieurs conditions pathologiques telles qu'une cardiopathie congénitale, une hépatite néonatale, un défaut des voies biliaires peuvent créer des colorations dentaires qui varient du beige au brun (Watts et Addy 2001, Ortner 2003). Watts et Addy identifient 11 facteurs possibles responsables de colorations dentaires intrinsèques. Seuls quelques-uns de ces facteurs engendrent des défauts amélaire pouvant ressembler aux HMI tels que :

L'**amélogénèse imparfaite héréditaire (AIH)** de types hypomature et hypominéralisé provoque des défauts semblables aux HMI (Figure 15). C'est une maladie génétique héréditaire. L'AIH affecte toutes les dents de l'individu atteint ce qui permet de la différencier des HMI qui touchent uniquement les PMP et éventuellement les IP (Crawford *et al.* 2007).

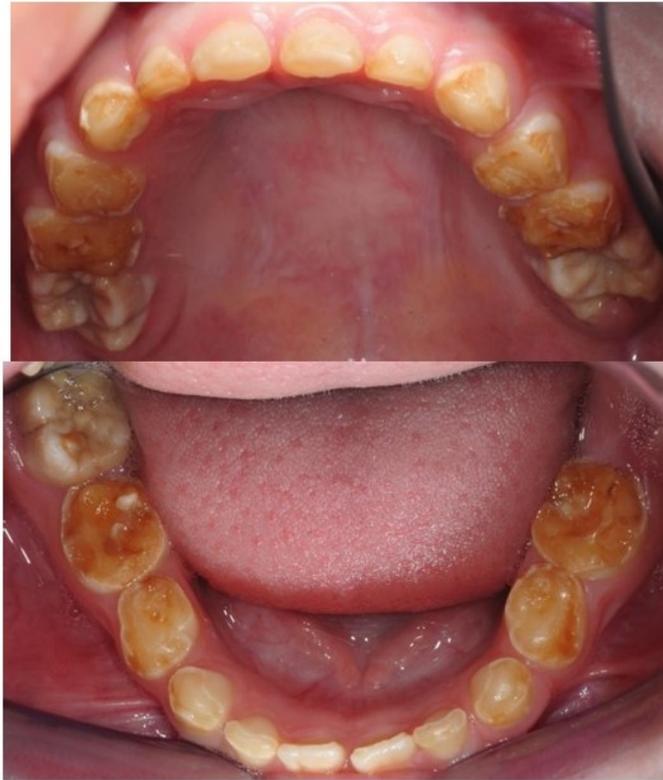


Figure 15. Photographies intra-buccales d'une patiente de 6 ans (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) en phase de denture mixte atteinte par une amélogénèse imparfaite héréditaire de type hypominéralisation.

L'**hypoplasie de l'émail** est un défaut quantitatif de l'émail (Clarkson 1992) alors que les HMI sont des défauts qualitatifs de l'émail. Cependant, dans les cas les plus sévères de HMI, l'émail hypominéralisé peut se fracturer et entraîner une perte de tissu en épaisseur après l'éruption (Weerheijm *et al.* 2003). Dans le cas des hypoplasies de l'émail, la réduction de l'épaisseur de l'émail est localisée et se produit avant la phase d'éruption de la dent (Figure 16). Les hypoplasies dentaires ont des bords réguliers et sont entourés d'émail sain (Figures 17-18), alors que les bords des fractures post-éruptives de l'émail hypominéralisé sont irréguliers et colorés (Weerheijm *et al.* 2001, Ghanim *et al.* 2017).



Figure 16. Photographie d'un patient présentant des hypoplasies punctiformes sur ses incisives centrales maxillaires dans le cadre d'une amélogénèse imparfaite de type hypoplasique (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).



Figure 17. Photographie d'un patient présentant des hypoplasies linéaires sur sa PMP mandibulaire droite et sur ses incisives centrales maxillaires dans le cadre d'une maladie rénale (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

La **fluorose dentaire** est une anomalie qualitative de l'émail due à une absorption excessive de fluor au cours de la minéralisation de la dent. Les stigmates sont diffus et symétriques et peuvent toucher toutes les dents (Ruch 2001). Une coloration extrinsèque peut se rajouter à la coloration due à la réflexion de la lumière dans l'émail défectueux (Figure 18).



Figure 18. Photographie d'un patient présentant une fluorose dentaire atteignant toutes ses dents (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) courtoisie Dr Patrick Rouas.

Nous ajouterons également à ces facteurs :

L'**hypominéralisation d'origine traumatique** survient lors d'un choc sur la dent déciduale qui va venir perturber la fin de l'amélogénèse de la dent successionale. L'hypominéralisation se produit lorsque le traumatisme intervient lors de la phase de maturation de la dent définitive. Elle peut être accompagnée d'une hypoplasie lorsqu'elle intervient un peu plus tôt dans l'amélogénèse (Denis *et al.* 2013) (Figure 19).



Figure 19. Photographies d'un patient présentant une hypominéralisation d'origine traumatique sur la face vestibulaire de son incisive centrale maxillaire gauche (vue de face) ainsi qu'une anomalie de forme (vue occlusale) (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

Les stades précoces de la maladie carieuse appelés *white spot*, leucome pré-carieux, ou encore lésion carieuse initiale, produisent des taches blanches sur la surface dentaire (Figure 20). Le déséquilibre de la balance déminéralisation/reminéralisation par diminution du pH induit une dissolution cristalline le long des prismes et des stries de Retzius (Pearce et Nelson 1989).

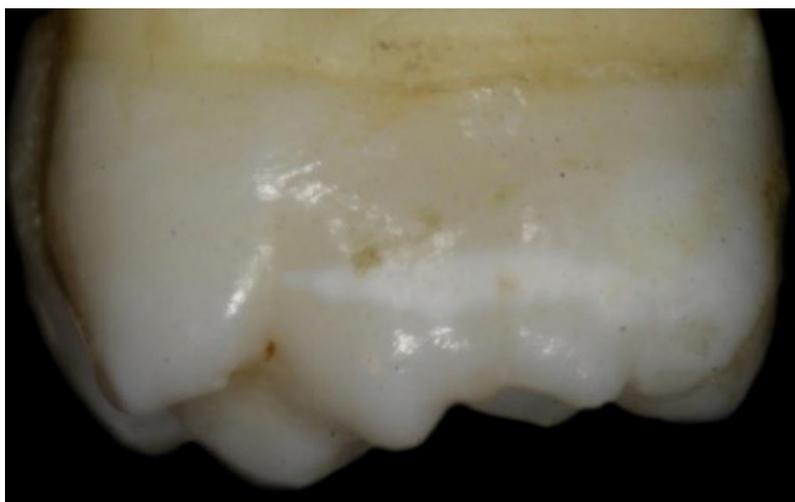


Figure 20. Photographie d'une première molaire maxillaire montrant une lésion carieuse initiale sur sa face interproximale (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

La **syphilis congénitale** est une maladie infectieuse qui se caractérise par des anomalies quantitative (hypoplasie) de l'émail. Certains aspects sont très caractéristiques de cette maladie : les *mulberry molars*, morphologie ressemblant à des mûres (Figure 21) et les incisives de Hutchinson (Figure 22) (Ortner 2003).



Figure 21. *Mulberry molars* des PMP maxillaire gauche et mandibulaire droite en cours d'éruption chez un individu probablement atteint de Syphilis (REW92\_67, 19<sup>ème</sup> siècle, *Museum* de Londres).



Figure 22. Incisives de Hutchinson (photographies du haut) et *mulberry molars* au niveau de la PMP mandibulaire droite (\* photographie du bas) chez un individu probablement atteint de Syphilis (FAO90\_1682, 18<sup>ème</sup> -19<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres).

Les **dents « rachitiques »** résultant d'un déficit en vitamine **D** se caractérisent par des hypominéralisations de la dentine et de l'émail mais également des hypoplasies de l'émail et des atteintes parodontales (Figure 23) (Foster *et al.* 2014, D'Ortenzio *et al.* 2016).



Figure 23. Photographies d'un individu présentant un probable rachitisme avec des hypoplasies de l'émail, des hypominéralisations de l'émail et de la dentine (sur les PMP, les canines et les incisives), une déformation du maxillaire et des atteintes parodontales sévères des PMP (spécimen OCU00\_230, 18<sup>ème</sup>-19<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres).

### 2.6.3. Facteurs extrinsèques

Les colorations extrinsèques sont le résultat d'une pigmentation se déposant à la surface de la dent. Avec le temps, les dents se colorent suite par exemple à l'exposition à des substances telles que le tabac, la noix de bétel, le café et le thé. Les colorations extrinsèques peuvent également être associées à l'exposition professionnelle à des sels de métaux ou à un certain nombre de médicaments contenant des sels de métaux. La coloration dentaire noire est caractéristique chez les personnes utilisant des suppléments en fer et les travailleurs dans la fonderie du fer. Un certain nombre d'autres métaux ont été associés à des colorations dentaires tels que le cuivre (coloration verte), le permanganate de potassium (coloration violette), le sel de nitrate d'argent (coloration grise) et le fluorure d'étain (coloration brun doré) (Watts et Addy 2001).

### 2.6.4. Colorations internes

Les colorations internes correspondent à l'incorporation d'une tache extrinsèque dans le corps de l'émail ou de la dentine. Elles peuvent correspondre à :

1. Un défaut de développement cité précédemment sous le terme de *colorations intrinsèques* auquel s'ajoute une contamination extrinsèque. La surface poreuse de ces défauts (par exemple dus à une amélogénèse imparfaite ou une fluorose) va incorporer plus facilement des substances d'origine extrinsèque.
2. Un défaut acquis, par exemple, l'usure dentaire par perte d'émail due à des phénomènes d'attrition, d'érosion ou d'abrasion. Ces défauts acquis comprennent également les caries dentaires qui sont localisées préférentiellement dans les zones les plus vulnérables (collet dentaire, point de contacts interproximaux et sillons occlusaux) (Figure 24). Les lésions initiales sont caractérisées par des taches blanches.



Figure 24. Lésion carieuse initiale sur une PMP mandibulaire gauche colorée par un facteur extrinsèque probablement d'origine alimentaire ou tabagique (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

## 2.7. Les HMI dans les populations du passé

A ce jour, quatre articles décrivent de possibles HMI dans des populations archéologiques.

En 2008, une publication fait état de 93,2% de HMI parmi un groupe de 45 individus issus d'un cimetière londonien (17<sup>ème</sup>-18<sup>ème</sup> siècles). Les auteurs emploient le terme de dysplasie (Ogden *et al.* 2008) « *Of the total number of individuals 41 (93.2%) showed signs of enamel developmental dysplasia or MIH* ». Un amalgame est fait entre des défauts quantitatif (hypoplasie) et qualitatif (hypominéralisation). Par exemple, les auteurs enregistrent les « MIH » en employant le terme de formation d'émail interrompue : p167 « *the tooth's enamel surface area visibly disrupted* » (Ogden *et al.* 2008). En s'intéressant à la bibliographie des auteurs, nous constatons qu'un an auparavant ces mêmes auteurs diagnostiquent parmi ce même groupe d'individus 93,2% d'hypoplasies (Ogden *et al.* 2007). D'une part, l'une des photographies de l'article paru en 2008 montre, par exemple, une seconde molaire déciduale considérée à tort comme un moyen de diagnostic des HMI (Figure 25). L'analyse des résultats de ces auteurs met en lumière plusieurs points à éclaircir (Rouas 2012).



**Figure 25.** Figure et légende extraites de l'article de Ogden *et al.* (2008) « *Photographies des dents montrant : a. Probable HMI de la pointe cuspidienne de la PMP mandibulaire gauche; b. Probable HMI de la cuspide disto-vestibulaire de la 2<sup>nd</sup>e molaire déciduale gauche ; c. Probable HMI de la cuspide méso-vestibulaire et la crête marginale mésiale de la 2<sup>nd</sup>e molaire déciduale gauche ; d. Vue montrant la symétrie en miroir des défauts de chaque côté. »*

Une seconde étude parue en novembre 2015 décrit un possible cas de HMI sur Lady Eleanor Talbot (Norwich Castle *Museum*, datation 1436-1468) (Curzon *et al.* 2015). Ce

spécimen comprend des colorations sur une grande partie de ses dents (canines, prémolaires, 1<sup>ères</sup>, 2<sup>ndes</sup> et 3<sup>èmes</sup> molaires permanentes), ce qui ne correspond pas aux critères de l'EAPD définissant les HMI (Figure 26). De plus, le spécimen présente de fortes usures occlusales.

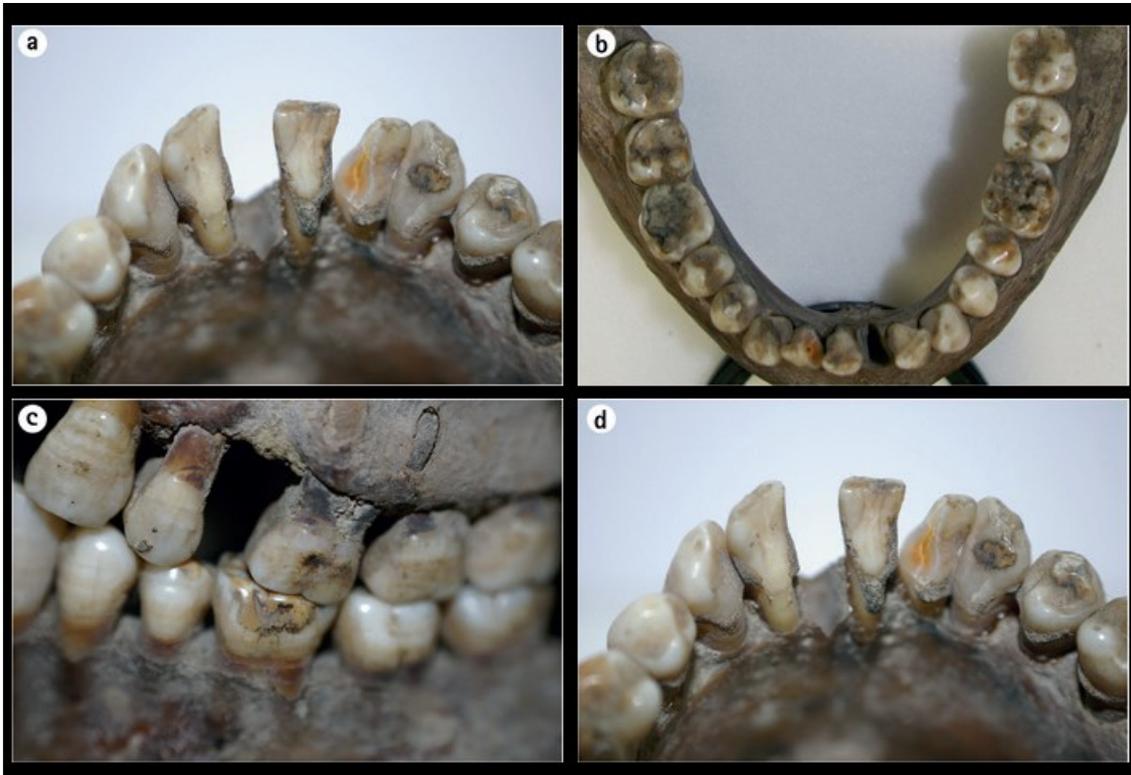


Figure 26. Figure et légende extraites de l'article de Curzon *et al.* (2015) « Photographies montrant : (a) vue linguale des dents antérieures mandibulaires ; (b) vue occlusale des dents mandibulaires ; (c) vue latérale gauche ; (d) photographie identique à (a) (erreur dans la publication...) »

Une étude portant sur l'examen clinique de trois séries archéologiques comprenant 323 individus (datées du 12<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> siècles) a révélé une prévalence de 3,1% de HMI et de 30,3% d'hypoplasies linéaires de l'émail (Kuhnisch *et al.* 2016). Comme l'ont mentionné les auteurs, des amalgames entre l'usure (attrition, érosion et abrasion), la nutrition, la coloration *ante-* et *post-mortem*, les HMI et d'autres défauts d'émail dans les séries archéologiques sont plus que probables. Nous constatons en effet sur la figure 28 extraite de l'article, que les auteurs ont classé en opacités délimitées de l'émail (en lien avec des HMI) des colorations qui pourraient s'avérer être taphonomiques (Figure 27 a-c).

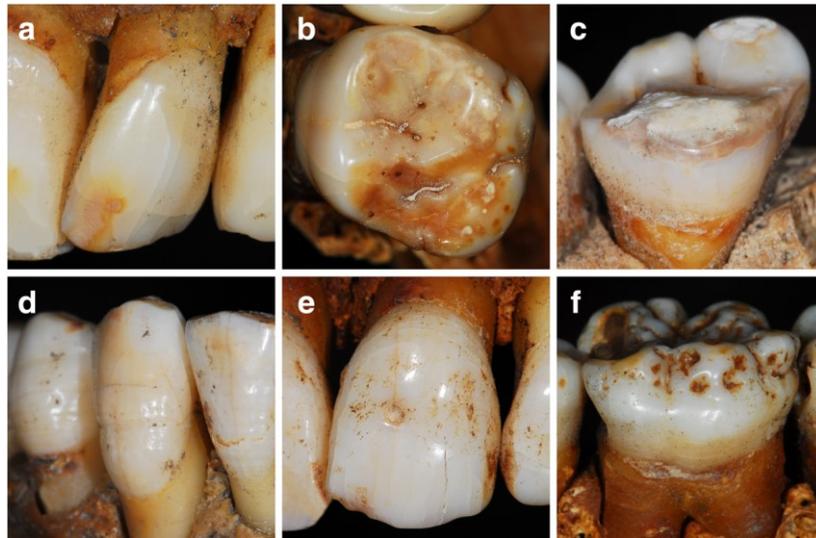


Figure 27. Figure et légende extraites de l'article de Kuhnisch *et al.* (2016) «Opacités délimitées sur une incisives maxillaires (a) et une PMP (b) ; carie de l'émail (c) ; Hypoplasie linéaire de l'émail (d) ; Hypoplasie (e) ; Combinaison d'une hypominéralisation/hypoplasie (f). (a-c) signes caractéristiques des HMI selon les critères de l'EAPD».

Enfin, dans une dernière étude comprenant 66 individus (31 datés du 12<sup>ème</sup>-13<sup>ème</sup> siècles et 35 datés du 15<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> siècles), une prévalence de 12,2 % de HMI est avancée (soit 8 individus affectés) (Lang *et al.* 2016). Les diagnostics de HMI reposent également sur un examen visuel des défauts. La notion de coloration *post-mortem* de l'émail n'est pas abordée par les auteurs de cet article.

Pour conclure, après une étude approfondie des différents articles traitant des HMI dans des populations archéologiques, il apparaît que ces diagnostics de HMI portant uniquement sur un examen visuel s'avèrent subjectifs et que les biais taphonomiques ne sont pas exclus.

### L'essentiel

Les hypominéralisations de l'émail (HMI) sont des défauts qualitatifs de l'émail présents sur au moins une première molaire permanente et éventuellement les incisives permanentes. À l'heure actuelle, en moyenne, 15% de la population européenne est affectée par cette anomalie à des degrés de sévérité différents. Plus d'une trentaine d'hypothèses étiologiques sont citées dans la littérature sans qu'aucune ne puisse se dégager. Certaines sont contemporaines (par exemple les antibiotiques et les polluants environnementaux), d'autres sont intemporelles (par exemple l'hypoxie à la naissance et les infections O.R.L.). Dans les populations du vivant, les diagnostics différentiels des HMI sont peu nombreux et se réfutent facilement. À ce jour, de rares études évoquent des diagnostics à partir d'observations de HMI dans des populations du passé, mais les biais dus à des colorations *post-mortem* restent à l'heure actuelle non exclus.

### 3. Les colorations taphonomiques : revue critique de la littérature

---

Les modifications apportées sur les tissus squelettiques résultant de leurs interactions avec le milieu d'enfouissement et de l'action des micro-organismes du sol ont un impact sur presque tous les aspects de la paléopathologie et en particulier sur la valeur des squelettes humains comme source d'informations sur le passé. Les phénomènes et les agents taphonomiques sont très diversifiés et font appels à de nombreux champs disciplinaires. Le domaine de la taphonomie a été décrit par Efremov en 1940 comme étant le phénomène par lequel les restes organiques transitent de la biosphère à la lithosphère *via* des processus géologiques et biologiques (Efremov 1940). L'intérêt pour ce domaine commença en paléontologie par l'étude du processus de fossilisation. Plus tard, les archéologues reconnurent l'importance de la compréhension des processus taphonomiques dans l'interprétation des modifications humaines de matériaux organiques. Dans un contexte paléopathologique, la nécessité de comprendre les processus *peri-mortem* et *post-mortem* pour discriminer le naturel du pathologique s'avère primordial.

Nous décrivons uniquement les processus taphonomiques susceptibles d'engendrer des colorations et/ou des déminéralisations pouvant être confondues avec des HMI. Ils peuvent être causés par des facteurs biologiques ou non-biologiques.

#### 3.1. Facteurs biologiques

Les racines des plantes peuvent « graver » leur chemin à travers les restes dentaires qui ont été enfouis ou laissés à la surface du sol (Irish et Nelson 2008). Ces marques se manifestent habituellement comme des stries légèrement colorées représentant des ramifications ou des réticulations (Figure 28). Les actions des racines peuvent complètement fragmenter une denture. Les plantes qui s'installent sur les restes déposés en surface sont capables de les tacher ou de créer un aspect marbré.



**Figure 28.** Traces (\*) sur les faces occlusale et palatine de la PMP maxillaire gauche appartenant à l'individu 172 (13<sup>ème</sup>-17<sup>ème</sup> siècles, Jau-Dignac-et-Loirac).

Poole et Tratman (1978) ont examiné des restes humains venant des grottes de Limestone (Angleterre). Ils ont décrit des lésions étendues sous la surface de l'émail. Ils ont expliqué ce phénomène en le comparant au développement de lésions carieuses (où la dissolution de l'acide provoque une déminéralisation), mais ont suggéré que ces changements se sont produits à la suite de la colonisation *post-mortem* de micro-organismes dans l'émail. Bell *et al.* (1991) ont constaté que, comparativement aux autres tissus durs, l'émail montre le moins de changements diagenétiques. Ils ont examiné des os et des restes dentaires enterrés dans différents milieux dont un en contexte maritime. Contrairement à Poole et Tratman, ils n'ont pas trouvé de preuves de la déminéralisation de l'émail, bien qu'ils aient constaté la présence de lésions carieuses, ce qui a accentué l'apparence des stries de Retzius et des stries transversales. Nous supposons que ces déminéralisations, se manifestant par une porosité de l'émail, pourraient ressembler macroscopiquement à des hypominéralisations.

### 3.2. Facteurs non-biologiques

Il existe de nombreux procédés non-biologiques qui peuvent affecter les dents humaines tels que le vent, l'eau, l'énergie solaire, et la terre elle-même.

#### ➤ L'eau

L'eau peut conduire à un assombrissement des tissus dentaires car elle percole à travers l'émail et la dentine et entraîne des dépôts de minéraux divers (Turner-Walker 2007). Les dents qui ont été immergées pendant une longue période de temps peuvent virer au brun ou gris foncé (Figure 29).



Figure 29. Photographie représentant une coloration taphonomique causée probablement par une immersion dans l'eau (MIN86\_9414, 14<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres).

➤ **La terre**

Mansilla *et al.* (2003) expliquent la présence de colorations brunes sur des dents par une infiltration du manganèse contenu dans le sol. Le fer et le manganèse dissous dans l'eau peuvent causer des taches brun-rouge ou noires (Figure 30). D'autres auteurs se sont également intéressés à l'étude de colorations dentaires provenant de matériel archéologique (Stermer *et al.* 1996, Abdullah *et al.* 2012). Stermer *et al.* (1996) ont montré qu'il existait des taux bien supérieurs de manganèse dans des colorations dentaires brunes, le manganèse ayant probablement coloré l'émail sous ses formes d'oxydes. Le manganèse, le baryum et le strontium étaient les trois seuls oligo-éléments qui présentaient une corrélation avec la coloration de l'émail. Dans un contexte archéologique, les sédiments contenus dans le sol d'enfouissement peuvent entraîner une coloration dentaire par taphonomie.



Figure 30. Photographies. A gauche : colorations d'origine taphonomique sur la mandibule et les dents du spécimen JAU\_152 (13<sup>ème</sup>-17<sup>ème</sup> siècles, Jau-Dignac-et-Loirac). A droite : colorations d'origine taphonomique sur les dents appartenant au spécimen GYE92\_10699 (11<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres).

Les dents sont principalement constituées d'hydroxyapatite (Cate 1994), un constituant inorganique riche en calcium qui maintient son intégrité dans un environnement neutre à légèrement basique. Les acides, comme ceux produits par certains constituants organiques du sol (y compris certaines tourbes), peuvent rapidement fissurer les dents (Pindborg 1970, Cate 1994). Ces acides peuvent s'infiltrer dans une sépulture par de nombreuses sources, y compris les eaux de ruissellements agricoles et industriels, les fosses à ordures adjacentes, et les fondations des bâtiments. Ils créent des puits et de larges zones peu profondes de tissu érodé sur les dents, en particulier au niveau de la dentine. La zone endommagée peut être colorée en noir et la zone exposée peut être grise et écaillée. Les fosses d'érosion sur l'émail sont souvent brunes, et ont tendance à se produire sur la face vestibulaire de la couronne près de la ligne du collet, où l'émail peut être très mince. La présence de substances alcalines près du corps, tels que la chaux, le calcaire, et les coquilles d'invertébrés peuvent atténuer l'acidité du sol (Nielsen-Marsh *et al.* 2007).

➤ **Le soleil**

L'énergie solaire peut blanchir les tissus dentaires. L'émail est beaucoup moins sensible à ce phénomène que la dentine car il y a une absence presque complète de matière organique et d'eau dans l'émail. L'étude du blanchiment solaire peut être particulièrement utile lors de l'interprétation de l'histoire de la perturbation de la dépouille. Si une dent se trouve avec son côté blanchi vers le bas, il a clairement été déplacé d'une position précédente. Les températures élevées peuvent affecter considérablement l'apparence et la qualité des dents brûlées. Les températures et/ou la durée de l'augmentation de l'exposition, colorent les dents en noir ou brun foncé; puis virent au bleu-gris et enfin blanc (calciné). Les changements de couleur d'origine thermique sont liés à la perte de la composante organique (principalement le collagène). La dentine va alors changer de couleur très rapidement (Shipman *et al.* 1984).

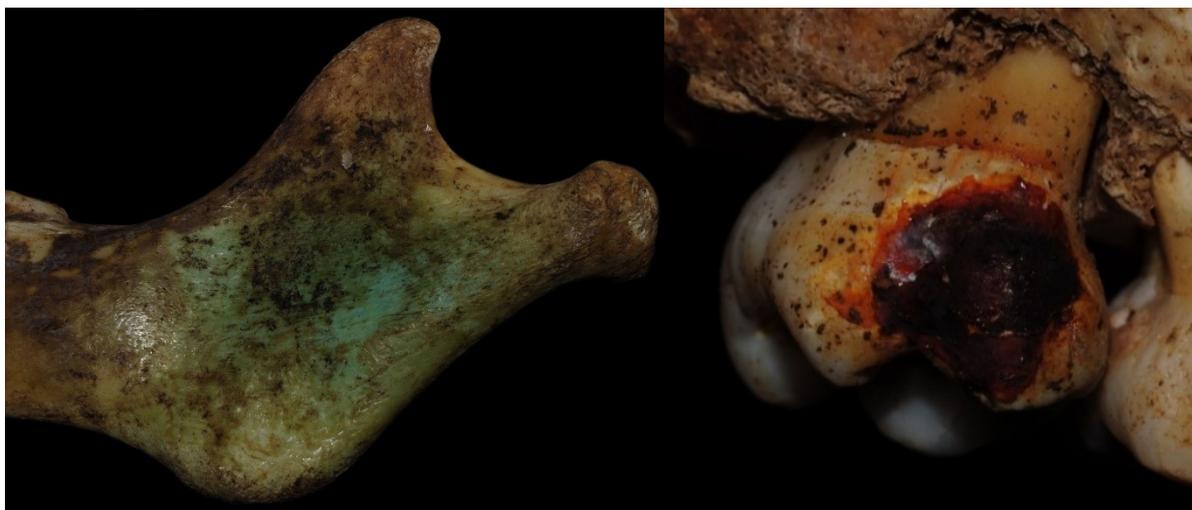
➤ **Fossilisation**

Quelques études ont considéré l'effet des changements *post-mortem* sur la qualité de l'émail et en particulier sur le matériel archéologique (Poole et Tratman 1978, Bell 1990, Bell *et al.* 1991, Irish et Nelson 2008). L'analyse des spectres montre que sur une courte échelle de temps (120ka), les modifications ne sont pas régulières et affectent différemment les rapports carbonate/phosphate, les types de matrices organiques et la cristallinité (Dauphin 2015). Il y a une similitude remarquable dans la distribution de nombreux oligo-éléments entre les dents fossiles et les dents contemporaines (Steadman *et al.* 1959). Contrairement à ce que ces auteurs

supposaient, il y a peu de pénétrations d'oligo-éléments dans la masse de la structure dentaire, même dans les dents datant de plus de 5 000 ans (Steadman *et al.* 1959). Des auteurs ont étudié les modifications des carbonates durant la fossilisation de l'émail. Ils n'ont pas pu mettre en évidence une augmentation de la cristallinité de l'émail fossile, mais ont cependant observé un léger changement significatif dans la proportion d'ions carbonates occupant des sites d'hydroxyle et de phosphate (Sponheimer et Lee-Thorp 1999). Dauphin et Williams (2004) ont analysé les teneurs en éléments chimiques d'un groupe de dents fossiles et contemporaines. L'émail est apparu souvent moins altéré que la dentine, mais non dépourvu de modifications diagénétiques. Les teneurs en Ca et P de l'émail fossile sont plus élevées que pour les dents récentes, mais les différences ne sont pas significatives. Tous les échantillons fossiles sont enrichis en Fe, Sr et Ca mais appauvris en Na et Mg. Les caractéristiques et les amplitudes des altérations dépendent des sites fossiles (Dauphin et Williams 2004, 2007).

➤ **Les pratiques culturelles**

Il existe des pratiques culturelles qui influent directement sur la couleur et la qualité des tissus dentaires. Dans l'Antiquité, il n'était pas rare de disposer des objets en cuivre pour accompagner les morts; ces éléments peuvent entraîner des taches vertes en cas de contact avec le corps (Figure 31). De même, des bijoux peuvent également être déposés avec le défunt (par exemple sur la Figure 31, une broche en métal pourrait être à l'origine de ce dépôt rougeâtre).



**Figure 31. Photographies. A gauche : coloration taphonomique due à un objet en cuivre sur le ramus de la mandibule de l'individu OCU00\_230 (18<sup>ème</sup>-19<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres). A droite : coloration dentaire taphonomique sur une PMP maxillaire droite due à un supposé objet métallique en fer (OCU00\_490, 18<sup>ème</sup>-19<sup>ème</sup> siècles, *Museum* de Londres).**

### **L'essentiel**

**En contexte archéologique, lors de l'étude de colorations dentaires, il est important de garder à l'esprit que les dents sont des tissus durs conçus pour interagir avec l'environnement extérieur. Des facteurs biologiques et non-biologiques peuvent créer des défauts ou des pigmentations de l'émail dentaire. Par exemple, des déminéralisations de l'émail sont susceptibles d'être produites par des micro-organismes mais d'autres facteurs peuvent également entraîner des colorations de l'émail comme par exemple *via* l'incorporation d'éléments tels que le Mn ou le Fe provenant du sol ou des eaux de passage du milieu d'enfouissement.**

# Chapitre 3

## Matériel



*Notre étude est réalisée à l'aide d'un échantillon comprenant des dents actuelles et historiques. L'échantillon archéologique comprend des individus de séries historiques provenant de Londres (Angleterre), de Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais, France), de Cognac-Saint-Martin (Charente, France), de Beauvais (Oise, France) et de Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde, France).*



# 1. Échantillon issu du vivant

---

Afin de constituer notre échantillon de dents actuelles, nous avons établi des critères d'inclusion et d'exclusion.

Les critères d'inclusion sont les suivants :

- recueil de premières molaires permanentes,
- dents d'individus âgés de 6 à 18 ans pour lesquels une HMI a été diagnostiquée selon les critères de l'EAPD (Weerheijm *et al.* 2003),
- dents extraites en raison d'un délabrement trop important ou pour raisons orthodontiques.

Les critères d'exclusion comprennent :

- dents dont l'émail n'est plus présent.

## 1.1. Recueil des dents

Les dents issues du vivant ont été recueillies en France et en Australie.

### 1.1.1. Échantillon français

Un protocole de recherche rédigé préalablement au recueil des dents a été soumis au ministère de la Recherche (DC-2015-2415, Annexe 2) et au Comité de Protection des Personnes du Sud-Ouest et d'Outre-Mer III. Les réponses de ces deux organismes sont situées en Annexe 3. Les données ont été anonymisées de sorte que l'identité du patient ne puisse être retrouvée. Des protocoles de recueil (Annexe 4) des dents ont été envoyés à des chirurgiens-dentistes à exercice exclusif en Odontologie pédiatrique (n=5), à des chirurgiens maxillo-faciaux et à des stomatologues (n=20) ainsi qu'à des orthodontistes (n=64), l'ensemble de ces professionnels exerçant en Gironde (n=89). Les dents extraites proviennent de cabinets libéraux de chirurgie dentaire et de chirurgie maxillo-faciale et de centres hospitalo-universitaires situés dans les régions Nouvelle Aquitaine, Occitanie et Auvergne-Rhône-Alpes.

Après recueil des dents extraites, 21 premières molaires permanentes ont été sélectionnées selon les critères précédemment définis. Les dents ont été placées par l'intervenant dans du sérum physiologique ou de l'eau déionisée selon nos consignes préalables. À leurs réceptions, les dents ont été immergées dans de l'hypochlorite de sodium (0,5%) dilué à 0,1% (par ajout d'eau déionisée) pendant 7 jours afin de dissoudre le tissu pulpaire. Dans un

second temps, les dents ont été conservées 14 à 21 jours dans de la Biseptine<sup>MD</sup> (Bayer, Allemagne) à 0,25% (chlorhexidine, chlorure de benzalkonium, alcool benzylique) en raison de ses propriétés antiseptiques, puis rincées et stockées dans de l'eau déionisée. Des auteurs ont montré que l'impact sur la microdureté de l'émail était du domaine de l'acceptable lorsque les dents étaient stockées pendant 2 mois dans une des solutions suivantes : eau déionisée, glutaraldéhyde, HBSS (solution saline équilibrée de Hanks), hypochlorite de sodium ou thymol (Aydin *et al.* 2015).

### 1.1.2. Échantillon australien

Le consentement éclairé du patient et l'approbation du Comité d'éthique humaine de l'Université de Melbourne (ID 0719683) ont été obtenus. Les dents ont été recueillies par le Pr David John Manton exerçant au centre de soins dentaires de l'Université de Melbourne (*Melbourne Dental School*, Australie). Après réception des dents extraites, 25 dents ont été sélectionnées en fonction des critères précédemment définis. Les dents ont été placées dans de la chlorhexidine à 1% pendant 14 à 16 jours durant le transport puis ont été rincées et stockées dans de l'eau déionisée.

## 1.2. Synthèse des informations relatives à l'échantillon issu du vivant

Les informations relatives à l'échantillon constitué de PMP hypominéralisées de patients porteurs d'une HMI sont synthétisées dans le Tableau 6. Un total de 46 PMP hypominéralisées appartenant à 26 individus ont été recueillies.

CODE	PROVENANCE (ville, pays)	INDIVIDUS SÉLECTIONNÉS	PMP (n)
ACT	Bordeaux, France	16	19
ACT	Lyon, France	1	1
ACT	Avignon, France	1	1
ACT	Melbourne, Australie	8	25
TOTAL		26	46

Tableau 6. Répartition des individus sélectionnés en fonction du nombre de PMP hypominéralisées recueillies. n : nombre de PMP, ACT : actuelle.

## 2. Échantillon historique

L'étude que nous avons réalisée sur les hommes récents comprend 4 séries historiques françaises provenant de cimetières médiévaux et post-médiévaux (Figure 32) et 17 séries anglaises provenant de cimetières romains, médiévaux et post-médiévaux. La première série (Sains-en-Gohelle) a été choisie car elle compte un grand nombre d'immatures. Une étude préalablement réalisée par Patrick Rouas avait mis en évidence des colorations sur des PMP s'apparentant à des taches de type HMI (Rouas 2012). Patrice Courtaud (ITA, CNRS, PACEA UMR 5199) nous a suggéré l'étude de deux autres séries (Beauvais et Cognac-Saint-Martin) qui ont été sélectionnées car elles incluent quelques spécimens d'immatures. Sur les conseils de Dominique Castex (DR, CNRS, PACEA UMR 5199), la collection de Jau-Dignac-et-Loirac a attiré notre attention car ce site a été partiellement inondé (Cartron et Castex 2006) et était donc susceptible de révéler des spécimens taphonomiquement altérés.



Figure 32. Localisation géographique des 4 séries archéologiques françaises (Beauvais, Cognac Saint-Martin, Jau-Dignac-et-Loirac et Sains-en-Gohelle).

Notre sélection a également porté sur l'étude de séries conservées au *Museum* de Londres car il abrite la série de Broadgate étudiée par Ogden *et al.* (2008). Cette dernière fait l'objet de la première publication portant sur d'éventuels cas de HMI dans des populations du passé (Ogden *et al.* 2008). Le *Museum* de Londres (MoL) accueille l'une des plus grandes collections de squelettes dans le monde. Une grande partie de la collection a été extraite des sites archéologiques situés à Londres et englobe des périodes médiévale et post-médiévale (Figure 33). Les données ostéologiques et pathologiques de ces spécimens sont disponibles sur le site internet du centre de bioarchéologie humaine du MoL (Center for Human Bioarchaeology 2008).

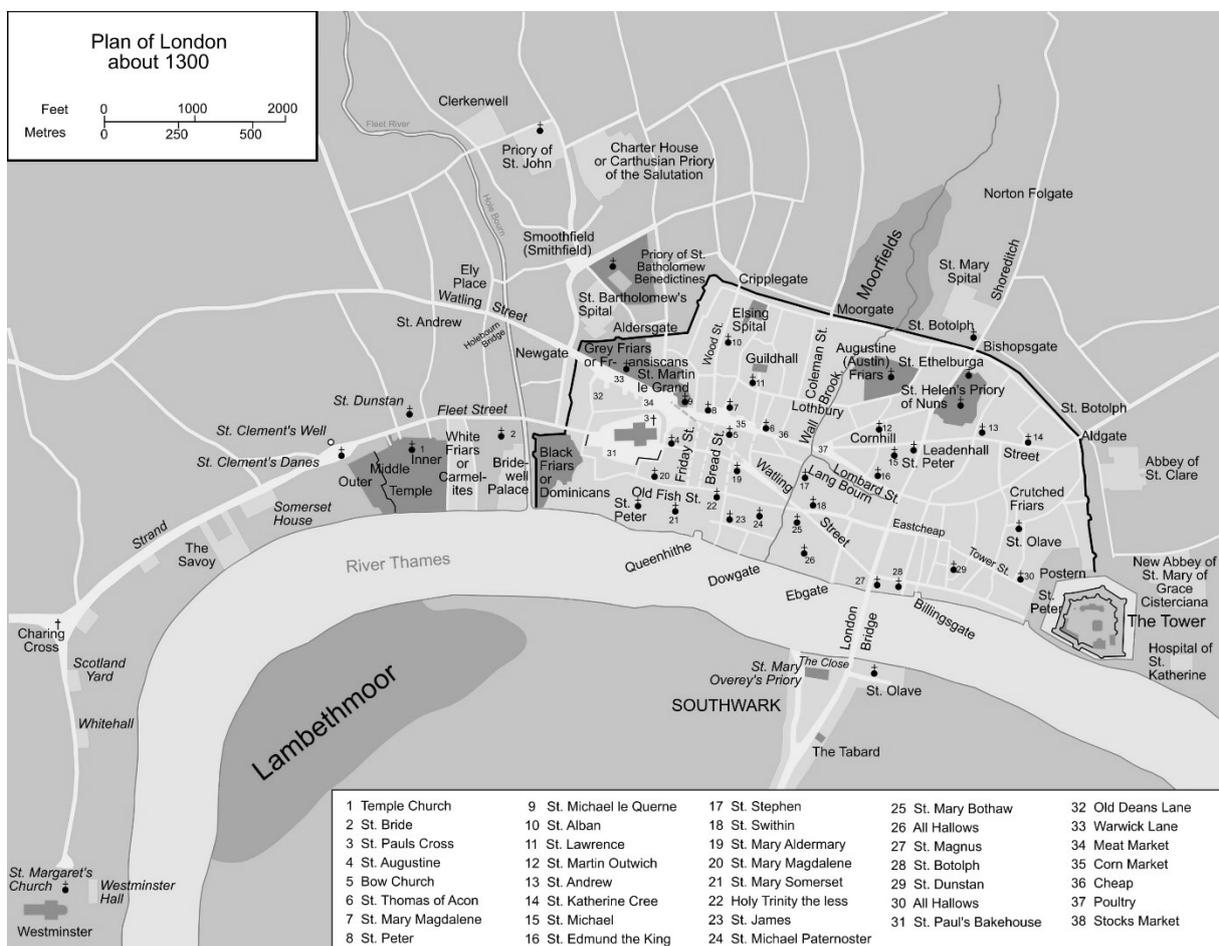


Figure 33. Carte de Londres en 1300. Version vectorisée par Grandiose (2012), issue de la version originale extraite de Shepherd (1911).

## 2.1. Présentation des séries

### 2.1.1. Sains-en-Gohelle

Une grande partie de notre matériel est issu d'une remarquable collection d'individus tant par l'importance de son effectif que par la qualité de conservation de ses ossements. Le

site, fouillé au 227, rue Lamartine à Sains-en-Gohelle (département du Pas-de-Calais, France, Figure 32), correspond à l'extension sud de l'occupation médiévale fouillée par Archéopole (dirigée par Hélène Assémat). La fouille a débuté en 2008 et a été reprise par l'équipe d'Archéosphère (dirigée par Cédric Beauval). Cette équipe a mis au jour 1262 structures archéologiques caractérisant essentiellement une chapelle et une aire funéraire (1167 fosses) ayant fonctionné du haut Moyen Âge à l'époque moderne (Beauval *et al.* 2012). L'aire funéraire aurait fonctionné pendant près d'un millénaire de la fin du 7<sup>ème</sup> siècle au début du 17<sup>ème</sup> siècle. Les individus inhumés correspondent à une population paroissiale, même si le recrutement semble se modifier au cours du temps. La taille de ce cimetière (plus de 1500 individus sur les 1100m<sup>2</sup> fouillés par les deux équipes de fouille) paraît très importante au regard des données d'archives (22 feux à Sains en 1422). Il faut donc imaginer un recrutement en dehors des limites de la paroisse. Un fossé, mis au jour par l'équipe d'Archéopole, pourrait correspondre à l'une des limites de l'aire funéraire. Dans cette hypothèse, le cimetière de la rue Lamartine à Sains-en-Gohelle serait fouillé sur moins de la moitié de sa superficie (Beauval *et al.* 2012). L'étude anthropologique a été réalisée par Natacha Crépeau et Fanny Chenal (Crépeau et Chenal 2012a). L'âge au décès des immatures (0-14 ans) a été estimé grâce à la méthode de Moorrees (Moorrees *et al.* 1963a, Moorrees *et al.* 1963b). Lorsque cette méthode n'était pas applicable (stades dentaires non observables ou seulement sur une dent), les méthodes fondées sur la croissance osseuse des diaphyses d'os longs ont été préférées (Scheuer et Black 2000). Lorsque celles-ci étaient à leur tour non opérationnelles (absence de restes dentaires et de diaphyses d'os longs), le degré de maturation osseuse fût employé. Cependant, ces individus n'ont pas été pris en compte dans notre étude, car seuls ceux présentant des restes dentaires ont été observés. Concernant l'âge au décès des adolescents (15-19 ans), il a été estimé grâce à la méthode de Scheuer et Black (2000). Grâce aux données collectées lors de cette étude anthropologique, nous avons pu sélectionner les individus en fonction de leur âge. La borne inférieure de 6 ans a été choisie afin que les premières molaires permanentes aient fait leurs éruptions (à partir de 6 ans) (Schaefer *et al.* 2009). La borne supérieure de 18 ans a été définie de manière à ce que les dents observées ne soient pas délabrées par l'usure ou des pathologies telles que la maladie carieuse. Ainsi, 298 individus étaient susceptibles de se situer dans un intervalle [5-19 ans] (sélection grisée dans le Tableau 7). Selon Crépeau et Chenal (2012b), 1222 dents ont été identifiées parmi les individus immatures [5-19 ans]. Grâce au catalogue des éléments présents pour chaque spécimen (Beauval *et al.* 2012), les individus pour lesquels aucun reste dentaire n'était enregistré ont été exclus. En fonction de ces critères, nous avons affiné notre échantillon qui ne comprenait désormais plus que 157 individus âgés de 5 à 19 ans.

Classes d'âge	immatures							adultes	
	foetus	périnatales	[0]	[1-4]	[5-9]	[10-14]	[15-19]	[20-29]	>30
effectifs	2	36	55	137	54	16	26	43	106
			10		17		137		
		14		38		10		320	

Tableau 7. Répartition des individus de la série de Sains-en-Gohelle en fonction des différentes classes d'âge (Crépeau and Chenal 2012).

### 2.1.2. Beauvais

Le cimetière du couvent des Sœurs Grises se situe à Beauvais (Oise, France). En 1992, la fouille quasi exhaustive du site conduite par Jean-Marc Fémolant a permis de mettre au jour plus de 350 inhumations et une cinquantaine d'ossuaires et de réductions de corps (Chevalier 1993). Le couvent a été occupé par la communauté religieuse entre 1480 et la fin du 18<sup>ème</sup> siècle. Le premier devoir des Sœurs Grises était de soigner les malades, quels qu'ils soient. À partir de 1630, leur activité principale fut l'éducation des enfants que leur confiaient les familles de Beauvais. En 1502, la communauté obtint pour le couvent le droit d'inhumer. Le cimetière reçut ses premières reliques le 20 août 1505. À l'aide des fiches de conservations des spécimens rassemblés à l'ostéothèque de Pessac (PACEA, UMR 5199), 14 individus immatures ont été sélectionnés. Tous ces individus présentaient au moins une PMP et sont âgés entre 6 et 18 ans. L'âge au décès a été estimé grâce à la méthode de Moorrees (Moorrees *et al.* 1963a, Moorrees *et al.* 1963b).

### 2.1.3. Cognac Saint-Martin

Des traces attestent de l'existence au faubourg Saint-Martin d'un petit village carolingien et mérovingien autour d'une fontaine votive qui sera transformée en chapelle au 4<sup>ème</sup> siècle, probablement par l'évêque Saint-Martin de Tours. Cette première paroisse se retrouve vite à l'écart du développement de Cognac, supplantée par le prieuré de Saint-Léger dont elle est une dépendance au Moyen Âge. De l'édifice vraisemblablement construit au 12<sup>ème</sup> siècle, il ne subsiste que certaines parties de l'élévation et deux groupes de chapiteaux. La nécropole proche de l'église Saint-Martin à Cognac (Charente, France) a été utilisée du 7<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> siècle. Le matériel que nous avons étudié provient du site de l'église dont l'utilisation chronologique s'étale du 16<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> siècle (Majo 1992). L'église a été remaniée à de nombreuses reprises au cours des siècles suivants, notamment au 19<sup>ème</sup> siècle. Ces individus sont conservés à l'ostéothèque de Pessac en Gironde (Université de Bordeaux, PACEA, UMR5199). Grâce à la documentation fournie par Anne-Marie Tillier (DR émérite, CNRS, PACEA UMR 5199), nous

avons sélectionné et observé 16 individus âgés de 5 à 19 ans. L'âge au décès a été estimé grâce à la méthode de Moorrees (Moorrees *et al.* 1963a, Moorrees *et al.* 1963b).

#### **2.1.4. Jau-Dignac-et-Loirac**

Ce site se trouve sur le rivage gauche de l'estuaire de la Gironde. Il se situe près d'une zone marécageuse jusqu'au 17<sup>ème</sup> siècle et a été partiellement inondé. Sa première occupation remonte au 1<sup>er</sup> siècle, avec la construction d'un *fanum* (édifice religieux), qui sera entretenu jusqu'au 4<sup>ème</sup> siècle. Après un hiatus de plusieurs siècles, le monument est remanié pour devenir une petite église et le site prend une fonction funéraire, puisque des sarcophages sont installés dans et autour de l'édifice, ainsi que des tombes représentées par des contenants en bois. Cette nécropole mérovingienne que l'on peut déjà qualifier d'aristocratique, au vu des sarcophages et du riche mobilier, et dont l'église sert à célébrer la mémoire familiale sera en usage jusqu'au milieu du 8<sup>ème</sup> siècle. Aux 9<sup>ème</sup> et 11<sup>ème</sup> siècles, le site voit la construction d'un petit habitat sur les ruines des précédentes occupations. À la fin du Moyen Âge, le site redevient un espace funéraire, où des sépultures simples et en contenants en bois, sont disposées à l'intérieur et autour d'une chapelle bâtie à la même période. Laissée à l'abandon à la fin du 18<sup>ème</sup> siècle, la chapelle est finalement démantelée en 1792 (Cartron et Castex 2006). Les individus que nous avons observés sont conservés à l'ostéothèque de Pessac en Gironde (Université de Bordeaux, PACEA, UMR5199). Cette série a permis de recueillir des dents colorées par taphonomie qui serviront d'échantillon comparatif. Ainsi 9 dents présentant des colorations brunes à la fois sur la mandibule et les maxillaires ont été prélevées. Les dents étaient préalablement isolées. Ces dents appartiennent à 2 individus matures (individus n°152 et n°2001).

#### **2.1.5. Cimetières londoniens médiévaux**

Ces cimetières varient en taille, certains contenant entre 500 et 1000 sépultures. Un cimetière particulièrement remarquable provient du site médiéval de S<sup>te</sup> Mary Spital (Figure 33). Environ 10500 sépultures sont issues de ce cimetière (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi ces sépultures, 5387 étaient suffisamment complètes et bien conservées pour un enregistrement ostéologique et paléopathologique complet. La datation des sépultures au cours de la période médiévale en Angleterre demeure problématique bien qu'une attention considérable ait été accordée à l'obtention de dates précises pour certaines des sépultures les plus importantes. La taille de l'échantillon fournira un aperçu important de la fréquence des maladies pouvant être attendues dans les échantillons archéologiques (Ortner 2011).

Les catalogues des différentes séries et la documentation historique conservées au *Museum* de Londres sont archivés sur le site du Centre de bioarchéologie humaine (Center for Human Bioarchaeology 2008). Pour chaque spécimen, nous disposons de la méthode d'estimation de l'âge au décès et de sa valeur. Systématiquement, en fonction des ossements et des restes dentaires disponibles, 4 méthodes d'estimation de l'âge au décès sont utilisées et basées sur la fusion des épiphyses (Scheuer et Black 2000), le développement dentaire (Smith 1991), l'éruption dentaire (Gustafson et Koch 1974) et la longueur des diaphyses (Maresh et Beal 1970). En fonction des données dont nous disposons, nous avons sélectionné pour notre étude les individus dont l'âge au décès était compris entre 6 et 17 ans.

La période médiévale en Grande-Bretagne couvre une large période de l'histoire. Les pratiques funéraires de cette époque ont été influencées par l'établissement du Christianisme au cours des 7<sup>ème</sup> et 8<sup>ème</sup> siècles. La période médiévale s'étend de la Conquête Normande jusqu'à la Réforme (de 1066 à 1547) et fût une période où de lourdes conséquences sur la population ont pu être observées (Welch 1992). La population a augmenté, l'urbanisation des villes s'est développée et l'apparition de maladies comme la lèpre et la peste noire ont eu un impact majeur sur les populations et la Société (Roberts et Cox 2003). Les pratiques funéraires sont en général peu complexes et la majorité des individus, sont soit des laïques soit des monastiques, et sont enterrés de manière standard. Dans la plupart des cas, les sépultures ne contiennent pas de matériel funéraire. En fonction du statut de l'individu, il pouvait être enterré *intramuros* ou *extramuros* de l'église paroissiale. Le mobilier funéraire de la noblesse était également variable. L'individu pouvait être enterré dans des cercueils de bois, de pierre ou de plomb. Ces cercueils pouvaient contenir des objets tels que des coussins en pierre ou du charbon de bois (Roberts et Cox 2003). Des exceptions à ces inhumations standards ont également été recensées, avec des sites de catastrophe où ont été identifiés des charniers, des sites de bataille et d'épidémie comme la peste noire. Dans ces lieux, de grandes fosses ou des tranchées ont été utilisées pour enterrer les populations.

#### 2.1.5.1. Guildhall Yard (code GYE92)

Le Site Guildhall Yard Est se situe au 72-73 Basinghall street et a été fouillé par le MoLAS (Musée du Service archéologique de Londres) entre 1992 et 1997 (Figure 34). À l'origine, il s'agissait du cimetière médiéval laïque de St Lawrence Jewry, dont les premières inhumations sont attribuées à la fin du 11<sup>ème</sup> siècle. Dans certaines sépultures, du matériel funéraire est déposé. Des clochettes dans un alliage de cuivre ont été découvertes dans un grand nombre de sépultures. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série

ont été réalisés par L. Cowal. Au total, 68 individus sont dénombrés et enregistrés dans la base de données WORD (*Wellcome Osteological Research Database*; Center for Human Bioarchaeology (2008)). Parmi ces derniers, 16 individus sont âgés entre 6 et 17 ans et sont sélectionnés dans notre étude.

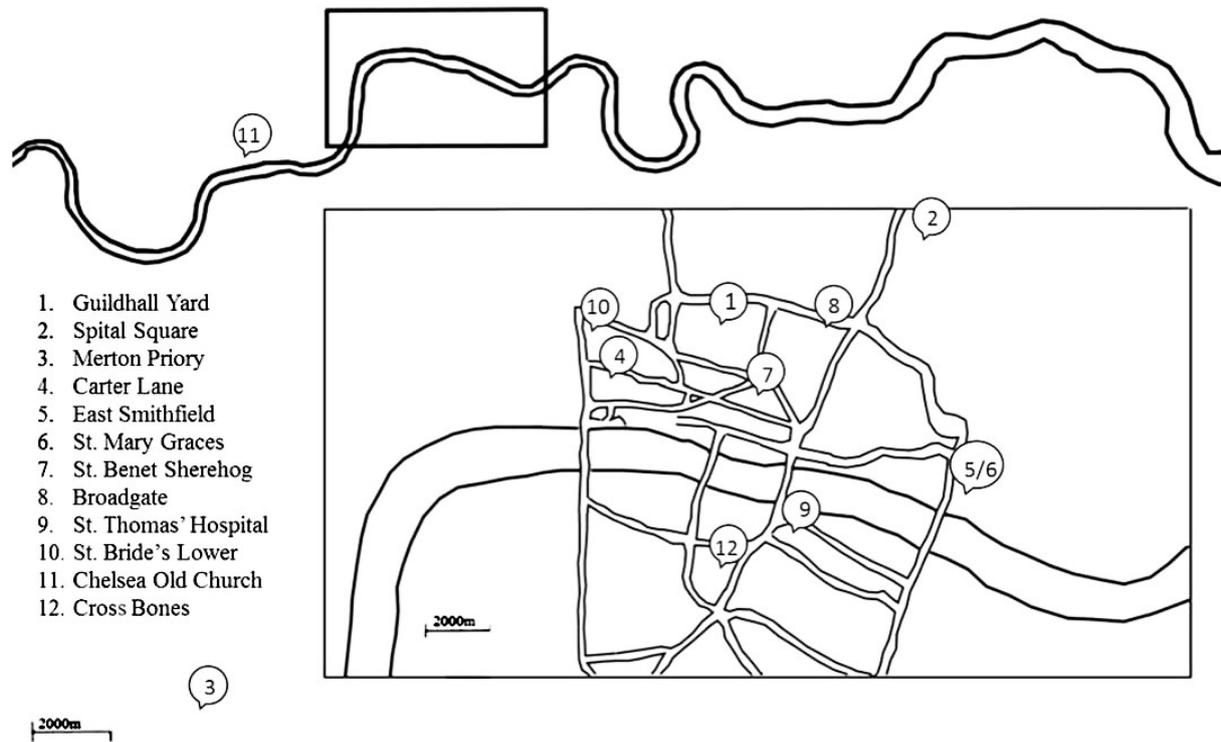


Figure 34. Localisation géographique des différents sites archéologiques du *Museum* de Londres. Figure extraite de Watts (2015) citant Porter (1998).

#### 2.1.5.2. Dominican Friary Carter Lane (code PIC87)

Lors de 2 phases successives de fouilles au 54-56 Carter Lane (Figure 34), 1-3 Pilgrim street et 25-27 Ludgate Hill en 1987 et 1988, une partie du cimetière médiéval de Londres *Blackfriars* a été révélé. À partir de l'excavation et de la documentation, il a été établi qu'une forteresse normande se trouvait à l'origine sur le site. Les Dominicains avaient acquis le terrain en 1274 ou 1276 comme carrière de pierre et fondèrent le couvent voisin connu sous le nom de *London Blackfriars*. Les sépultures sont datées du 13<sup>ème</sup> au 16<sup>ème</sup> siècles, mais la majorité d'entre elles sont associées à des objets attribués aux 13<sup>ème</sup> et 14<sup>ème</sup> siècles. La majorité des individus ont été inhumés dans des cercueils en bois. L'étendue du cimetière n'est pas connue. Le fossé sud remblayé, au nord de l'église est devenu le cimetière « *Friary* ». Les sépultures de ce site sont de style chrétien, hormis l'identification d'un charnier qui contenait 13 personnes, d'âges et de sexes différents, qui semblent avoir été enterrées simultanément ce qui laisse suggérer une épidémie. Le cimetière et le couvent ne sont plus utilisés depuis 1538 en raison

de la dissolution des monastères sous Henri VIII. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série ont été réalisés par J. Bekvalac, L. Cowal, T. Kausmally et R. Mikulski (Center for Human Bioarchaeology 2008). Un total de 58 squelettes ont été excavés dont 57 ont été analysés. Parmi ces derniers, 6 individus sont âgés de 6 à 17 ans.

#### 2.1.5.3. *East Smithfield Black Death (code MIN86a)*

Le cimetière médiéval de la Monnaie Royale se situe à East Smithfield (Figure 34). La Monnaie Royale est une agence exécutive du Royaume-Uni chargée de la frappe de la monnaie britannique, la Livre Sterling. Le cimetière *Black Death* a été fouillé en 1986-88 et a couvert environ 2ha. Le cimetière était en usage de 1348 à 1350 et a été le premier cimetière établi *Black Death* à Londres. Le *Black Death* correspond à un épisode de l'histoire européenne. Une pandémie de peste durant le Moyen Âge a décimé la population européenne. Les sépultures sont réparties sur 2 zones. Un total de 558 sépultures ont été mises au jour au niveau du cimetière Ouest ; 300 individus sont issus de fosses communes et 258 de tombes à inhumation simple. Le cimetière Est a révélé 192 individus ; 102 issus de fosses communes et 90 d'inhumations simples. Il a été estimé qu'environ 40 à 50% du cimetière est toujours enfoui sous la cour de la Monnaie Royale. Un total de 636 individus ont été enregistrés dans la base de données par J. Bekvalac, L. Cowal, R. Mikulski et T. Kausmally (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi cet effectif, 114 individus ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.5.4. *Merton Priory (code MPY86)*

Les fouilles réalisées sur le site de l'Augustin Prieuré de Sainte-Marie Merton (Figure 34) ont été entreprises par le DGLA (*Department of Greater London Archaeology*) entre 1977 et 1983, puis par le MoLAS de 1986 à 1988. Le site a révélé 738 sépultures, regroupées sur 4 domaines principaux. Tous les espaces funéraires sont sur 4 phases chronologiques, datées de 1117 à 1538 et couvrant la période complète de l'occupation monastique en place. La majorité des sépultures sont de style fin médiéval (à savoir en décubitus, la tête à l'ouest et les pieds à l'est). Des tombes à ciste, en pierre, simples et multiples ont été observées. Le traitement funéraire consistait à utiliser des cercueils de pierre monolithiques et à remplir la base de la tombe avec de la cendre et du charbon de bois. Ces données ont été enregistrées par R. Mikulski, J. Bekvalac, T. Kausmally et L. Cowal (Center for Human Bioarchaeology 2008). Sur les 676 individus répertoriés, 27 ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.5.5. *S<sup>t</sup> Benet Sherehog (code ONE94)*

L'église et le cimetière de S<sup>t</sup> Benet Sherehog (Figure 34), autrement connu comme « *Poultry* », ont été excavés par le MoLAS entre 1994 et 1996. La construction de l'église date de

la fin du 11<sup>ème</sup> siècle et fut en utilisation probablement jusqu'à sa destruction lors du grand incendie de Londres en 1666. Sur les 274 sépultures, 270 ont été retenues pour l'analyse par J. Bekvalac et L. Cowal, et seulement 39 ont été datées de la période médiévale (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi les individus de la période médiévale, 5 ont un âge au décès compris entre 6 et 17 ans. Les sépultures post-médiévales de ce site seront décrites dans la partie suivante (*confer* chapitre 3 §1.2.1.6.).

#### 2.1.5.6. *S<sup>te</sup> Mary Grace (code MIN86b)*

Ce site porte le nom de ce qui était autrefois la Monnaie Royale. L'excavation qui a eu lieu entre 1986 et 1988 a mis au jour une grande partie d'un cimetière médiéval comprenant 2 périodes bien distinctes. Un grand cimetière est associé à l'abbaye cistercienne de S<sup>te</sup> Mary Graces (Figure 34, 1350-1540). Il couvre une superficie importante et a révélé 420 sépultures qui ont été séparées en 2 groupes faisant référence aux monuments Churchyard et Abbey. Les inhumations se situaient au nord de l'église et s'étendaient vers l'Ouest. Les sépultures correspondent à un style standard de sépulture chrétienne médiévale et semblent n'avoir aucune signification particulière en lien avec un statut social particulier. La partie ouest de ce cimetière n'a plus été utilisée à partir de 1405. Parmi ces 420 sépultures, 389 individus ont été répertoriés. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série ont été réalisés par J. Bekvalac, L. Cowal, T. Kausmally et R. Mikulski (Center for Human Bioarchaeology 2008, DeWitte et Bekvalac 2010). À partir de la documentation disponible au MoLAS, nous avons dénombré 54 individus dont l'âge au décès est compris entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.5.7. *Spital Square (code NRT 85)*

Le site Spital Square (Figure 34), précédemment dénommé S<sup>te</sup> Mary Spital est situé au nord-est de Londres du côté nord de la rue Folgate. Sur ce site furent bâtis la maison du prieuré augustinien et l'hôpital de S<sup>te</sup> Mary Spital, dont il a été l'un des plus importants de l'Angleterre médiévale. L'excavation du site a été réalisée entre 1985 et 1989 par le *Museum* de Londres. Les données anthropologiques ont été enregistrées par J. Bekvalac, L. Cowal, T. Kausmally, R. Mikulski (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi les 124 individus enregistrés, 30 ont entre 6 et 17 ans.

### 2.1.6. *Cimetières londoniens post-médiévaux*

La période post-médiévale débute à la Réforme de 1550 et continue jusqu'à la période moderne. La fermeture de presque tous les caveaux funéraires et cimetières de Londres par acte de sépulture en 1852 a occasionné la fin de presque toutes les sépultures dans Londres après cette date (Harding 1998) cité dans Center for Human Bioarchaeology (2008). La période

englobe une série d'événements clés dans l'histoire de Londres comme la grande peste de 1665 et le grand incendie de Londres en 1666, qui a exigé que de grandes parties de Londres soient reconstruites. Au 18<sup>ème</sup> siècle, la variole et la tuberculose furent à l'origine d'un grand nombre de décès dans la population londonienne. Le manque de lumière du soleil, les activités de plein air, et les modes alimentaires ont engendré des désordres métaboliques comme le rachitisme et le scorbut. Le taux de syphilis et d'autres maladies sexuellement transmissibles ont également augmenté en raison des nombreuses maisons de prostitution établies à Londres durant cette période (Roberts et Cox 2003).

#### 2.1.6.1. *Chelsea Old Church (code OCU00)*

Durant la seconde guerre mondiale, la vieille église de Chelsea a été complètement détruite par les bombes (Figure 34). Sa reconstruction a débuté dans les années 1950. Dans les années 1960, la poursuite des travaux a obligé l'exhumation et la réinhumation d'une partie des individus du cimetière datant des 18<sup>ème</sup>-19<sup>ème</sup> siècles. En 2000, de nouvelles fouilles ont été effectuées par le MoLAS. Un total de 290 squelettes ont été exhumés, dont 198 individus ont été analysés. Deux caveaux et deux tombes bordées de briques ont été découverts, mais la majorité des sépultures étaient des tombes emplies de terre. Les cercueils étaient principalement en bois, mais certains étaient revêtus de plomb. Un certain nombre de plaques de cercueil ont été retrouvées avec les sépultures et ont permis l'identification complète ou partielle de 25 personnes. À partir des données biographiques et de leurs emplacements, il a été conclu que ce cimetière recueillait des individus de statut élevé, qui vivaient à Chelsea au cours des 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles, avec des plaques de cercueil datant de 1712 à 1842. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série ont été réalisés par J. Bekvalac et T. Kausmally (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi ces 198 individus, 8 ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.6.2. *S<sup>t</sup> Benet Sherehog (code ONE94)*

La construction de l'église S<sup>t</sup> Benet Sherehog date probablement de la fin du 11<sup>ème</sup> siècle et fut en utilisation jusqu'à sa destruction lors du grand incendie de Londres en 1666. La paroisse n'a pas été reconstruite après l'incendie. Par la suite, le terrain a été utilisé comme lieu de sépulture pour les 2 paroisses S<sup>t</sup> Benet et S<sup>t</sup> Stephen Walbrook jusqu'à ce qu'il soit fermé par une loi du Parlement en 1853. Sur les 274 individus récupérés lors des fouilles, 39 étaient médiévaux (*confer* chapitre 3 §1.2.1.5.) et 235 post-médiévaux. Parmi ces derniers, 231 ont été retenus pour l'analyse et sont jugés à ce jour, principalement des 16<sup>ème</sup> et 17<sup>ème</sup> siècles. Tous les individus ont été enterrés dans des cercueils et un certain nombre de broches en alliages de cuivre ont été récupérées lors de la fouille. Les registres paroissiaux indiquent que le lieu de

sépulture a été partagé entre les riches et les pauvres. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série ont été réalisés par J. Bekvalac et L. Cowal (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi les 231 sépultures, 21 individus ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.6.3. *S<sup>t</sup> Brides Lower (code FAO90)*

Le cimetière de S<sup>t</sup> Bride Lower (Figure 34), au 75-82 Farringdon street, comprend la population paroissienne de S<sup>t</sup> Bride du 17<sup>ème</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle. Ce cimetière est le résultat de la surpopulation du cimetière réel lié à l'église de S<sup>t</sup> Bride « *Fleet street* » et date probablement de la fin du 18<sup>ème</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle (1770-1849). Un total de 606 individus ont été excavés dont 544 ont pu être étudiés. La plupart des sépultures sont orientées Est-Ouest et comprennent des cercueils en bois. Ce cimetière abritait les individus issus d'un hospice pour les pauvres et de la prison « *Fleet* », établissements qui se trouvaient à proximité. La majorité des individus étaient d'un statut socio-économique bas. La population est bien documentée dans les registres paroissiaux qui fournissent des informations détaillées sur les individus et la cause de leurs morts. Ces données ont été enregistrées par T. Kausmally (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi les 544 individus recensés, 36 ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.6.4. *Broadgate (code LSS85)*

Un cimetière municipal, le « *New Churchyard* » fondé en 1569 (et en usage jusqu'en 1714), a été découvert au 19<sup>ème</sup> siècle pendant la construction de Broad street et de la station Liverpool street. Le site a été entièrement excavé de 1984 à 1987 par le Département d'Archéologie urbaine du *Museum* de Londres. Plusieurs centaines de squelettes ont été enterrés sur place. L'étude anthropologique a été réalisée par B. White (Ogden *et al.* 2007, Center for Human Bioarchaeology 2008, Ogden *et al.* 2008). Parmi les 137 individus recensés, 24 ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.6.5. *Cross bones (code REW92)*

Les fouilles ont été menées par le MoLAS en 1992 sur le site de *Cross Bones* (Figure 34), à l'ouest de Redcross Way à Southwark. Dans les cinquante dernières années d'utilisation du cimetière (de 1800 à 1853), un total de 148 inhumations ont été enregistrés. Le cimetière de *Cross Bones* servit aux pauvres de la paroisse de Saint-Sauveur et aurait peut-être également recueilli au début du 17<sup>ème</sup> siècle des sépultures de prostituées. En 1769, il devint un cimetière de pauvres et l'est resté jusqu'à sa fermeture en 1853. Toutes les sépultures étaient en décubitus et alignées le long d'un axe Est-Ouest. Des vestiges de vêtements ont été retrouvés comme des bottes, des pantalons et des chemises. Ces données ont été enregistrées par R. Mikulski (Center

for Human Bioarchaeology 2008). Parmi les 147 individus recensés, 3 individus ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.6.6. *S<sup>t</sup> Thomas' Hospital (code NLB91)*

Au cours de l'année 1991, des fouilles ont été entreprises sur le site du New London Bridge House, à Southwark qui révélèrent une partie d'un cimetière post médiéval au nord de S<sup>t</sup> Thomas' street (Figure 34). Trois tranchées funéraires comprennent des fosses communes constituées soit par des sépultures de personnes pauvres soit par des inhumations en masses suite à un épisode épidémique. L'hôpital S<sup>t</sup> Thomas fut l'un des 3 hôpitaux qui a survécu à la dissolution des monastères. Sur les 227 individus récupérés, 193 ont été analysés. La présence de broches d'enveloppe et de clous de cercueil indique qu'un grand nombre d'entre eux ont été enterrés dans des linceuls et des cercueils. L'étude anthropologique et l'établissement du catalogue de cette série ont été réalisés par J. Bekvalac, L. Cowal, T. Kausmally et R. Mikulski (Center for Human Bioarchaeology 2008). Parmi ces 194 individus, 22 ont entre 6 et 17 ans.

#### 2.1.7. *Cimetières Romains (Londinium)*

Un grand nombre de restes humains de la période romaine (du 1<sup>er</sup> au début du 5<sup>ème</sup> siècle) ont été excavés de la *City* (centre-ville de Londres) et du *Grand Londres* (comprenant les 33 districts). À l'heure actuelle, les collections restent inaccessibles aux chercheurs extérieurs en raison de la poursuite des projets de recherche portant sur la mobilité de la population, l'alimentation, la santé et la démographie. Initialement, notre mission n'incluait pas de collection romaine, mais à la fin de celle-ci, Rebecca Redfern (Conservatrice du *Museum* de Londres) nous a proposé d'étudier quelques spécimens de leurs collections. La majorité des sépultures sont des inhumations et des crémations issues des cimetières *extra-muros*, avec quelques restes humains (dépôts désarticulés et articulés) retrouvés dans les zones *intra-muros* au sein du village romain et des zones limitrophes.

##### 2.1.7.1. *Cimetière romain Ouest*

Pendant le printemps et l'été 1998, des fouilles archéologiques ont eu lieu à *Atlantic House*, Londres EC2 (sous le nom de code ATL89 et ATC98) et ont révélé plusieurs éléments importants d'un cimetière romain situé sur les rives de la rivière Fleet près de la route principale (Watling street), là où elle traverse la rivière à 300m de Newgate. À la fin du 1<sup>er</sup> siècle, la stabilisation des terrains à grande échelle fut suivie par la création d'un cimetière. Au total, 19 inhumations et 29 crémations ont été découvertes dans une partie du cimetière Ouest jusque-là inconnue qui était située de chaque côté de la route principale à l'ouest de la ville. La plupart des inhumations et des crémations dataient des 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> siècles et avaient donné lieu à des

rites divers pendant toute cette période. Aucun bâtiment n'a été retrouvé en association avec le cimetière.

L'étude ostéologique a démontré que la population occupant le cimetière était généralement en bonne santé, qu'elle jouissait d'une bonne alimentation et ne souffrait pas de maladies sévères. Trois des squelettes n'avaient pas atteint l'âge adulte. Le cimetière semble avoir été abandonné au 4<sup>ème</sup> siècle et a des points de ressemblance avec des sites fouillés à l'est de la rivière Fleet. Les pratiques funéraires se composaient de crémations et d'inhumations (Est-Ouest et Nord-Sud), pratiques retrouvées dans les coutumes de l'Empire romain. De nombreuses sépultures contenaient du matériel funéraire : des coupes, des boîtes à collier, des céramiques, un squelette de poulet, des bijoux (en jais, en argent et en alliage de cuivre), une broche en os, des jouets, une cloche en bronze miniature, des pièces de monnaie, des peignes en os et des verres. Ce cimetière comprend plusieurs sites. Nous avons eu accès à un individu issu du site Atlantic House aux 46-50 Holborn Viaduct (code ATC97).

#### 2.1.7.2. Cimetière Romain Sud

Le cimetière romain Sud intègre les sépultures de la *Southbank* (district londonien) s'étendant de la Tamise aux arrondissements modernes de Southwark et Lambeth. L'étendue de la zone du cimetière n'est pas connue à l'heure actuelle. Les sépultures mises au jour datent du 1<sup>er</sup> siècle jusqu'à la fin du 4<sup>ème</sup> siècle. Les sites ont été initialement excavés par le DGLA, puis des fouilles ultérieures ont été effectuées par le MoLAS. Ils comprennent des inhumations simples ou des crémations, ainsi que plusieurs complexes funéraires, avec un grand nombre d'individus situés le long des routes de Roman Stane street et Watling street. Un certain nombre de sépultures ont également été implantées au sud de la jonction de ces deux routes. Quelques autres sépultures ont été enregistrées le long de la route partant du pont de Southwark à Lambeth. Les sépultures étaient généralement alignées le long d'axes, soit Nord-Sud, soit Est-Ouest et comprenaient du matériel funéraire tel que de la céramique, des lampes, du verre, du cuivre, des bijoux, des clous en fer, du silex, des os travaillés et des pièces de monnaie. Nous avons eu accès à quatre individus du site du 165 Great Dover street (code GDV96), 2 individus de Redcross way (code REW92), et 7 individus de Lant street (code LTU3).

## 2.2. Synthèse de la distribution des individus âgés de 5 à 19 ans en fonction des séries

Les données relatives à l'âge au décès, la provenance, et la datation des différents individus sont synthétisées dans le Tableau 8. Ainsi, nous avons dénombré 700 individus dont

l'âge au décès est compris entre 5 et 19 ans et 2 adultes (Jau-Dignac-et-Loirac) dont la datation chronologique s'étale sur une période allant du 1<sup>er</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle. Une moitié proviennent de sites français (n=330/700) et l'autre moitié (n=370/700) proviennent de sites anglais.

<b>CODE</b>	<b>PROVENANCE</b> (ville, pays)	<b>PÉRIODE</b> (siècles)	<b>EFFECTIFS</b> Ind sélectionnés / total d'Ind
<b>ATC97</b>	Londres, Angleterre	1 <sup>er</sup> -5 <sup>ème</sup>	1/ND
<b>Bea</b>	Beauvais, France	15 <sup>ème</sup> -18 <sup>ème</sup>	14/≈400
<b>CO</b>	Cognac, France	16 <sup>ème</sup> -18 <sup>ème</sup>	16/ND
<b>FAO90</b>	Londres, Angleterre	18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup>	26/544
<b>GDV96</b>	Londres, Angleterre	1 <sup>er</sup> -5 <sup>ème</sup>	4/ND
<b>GYE92</b>	Londres, Angleterre	11 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup>	16/68
<b>JAU</b>	Jau-Dignac-et-Loirac, France	13 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup>	2/ND
<b>LSS85</b>	Londres, Angleterre	16 <sup>ème</sup> -18 <sup>ème</sup>	24/137
<b>LTU3</b>	Londres, Angleterre	1 <sup>er</sup> -5 <sup>ème</sup>	7/ND
<b>MIN86a</b>	Londres, Angleterre	14 <sup>ème</sup>	114/637
<b>MIN86b</b>	Londres, Angleterre	11 <sup>ème</sup> -15 <sup>ème</sup>	54/389
<b>MPY86</b>	Londres, Angleterre	12 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup>	27/738
<b>NLB91</b>	Londres, Angleterre	16 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup>	22/194
<b>NRT85</b>	Londres, Angleterre	11 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup>	30/124
<b>OCU00</b>	Londres, Angleterre	18 <sup>ème</sup> -19 <sup>ème</sup>	8/198
<b>ONE94</b>	Londres, Angleterre	16 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup>	21/231
<b>ONE94</b>	Londres, Angleterre	11 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup>	5/270
<b>PIC87</b>	Londres, Angleterre	13 <sup>ème</sup> -16 <sup>ème</sup>	6/57
<b>REW92</b>	Londres, Angleterre	19 <sup>ème</sup>	3/147
<b>REW92</b>	Londres, Angleterre	1 <sup>er</sup> -5 <sup>ème</sup>	2/ND
<b>SeG</b>	Sains-en-Gohelle, France	7 <sup>ème</sup> -17 <sup>ème</sup>	298/1021
<b>TOTAL</b>		1 <sup>er</sup> -19 <sup>ème</sup>	700/ND

Tableau 8. Distribution des individus (Ind) sélectionnés en fonction des séries. ND : non déterminé.

# Chapitre 4

## Méthodes



*Afin de répondre aux différentes problématiques apparues après l'analyse critique de la littérature portant sur les hypominéralisations de l'émail dans les populations du passé (confer chapitre 2 §2.7), différents types d'examens visuels, photographiques, microscopiques, microtomographiques et spectroscopiques ont été réalisés sur les dents issues de séries du vivant et de séries archéologiques.*



# 1. Examen visuel

---

Afin de comparer des données issues du vivant à celles issues de séries archéologiques, nous avons sélectionné à la fois des dents extraites chez des patients et des dents recueillies lors de l'examen de plusieurs séries archéologiques.

## 1.1. Échantillon issu du vivant

Parmi le groupe de dents recueillies par les différents praticiens, l'isolement de fragments d'émail ayant pu être engendrés par l'acte d'avulsion de la dent ont été conservés et examinés. Les objectifs de la constitution de cet échantillon étaient :

- d'obtenir des données sur la structure des opacités de l'émail hypominéralisé et de l'émail sain de dents présentant une HMI,
- d'étudier la structure des défauts en fonction de leurs couleurs (blanche, beige et jaune-brune).

## 1.2. Échantillon historique

Afin de sélectionner les spécimens susceptibles de présenter des colorations de l'émail, un examen visuel des séries archéologiques a été effectué.

L'examen des séries de Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin, Beauvais et du *Museum* de Londres avait pour objectifs d'étudier :

- la fréquence des colorations dentaires sur les PMP et des pertes *ante-mortem* de PMP parmi les individus âgés de 5 à 19 ans de chaque série,
- la fréquence des colorations parmi les individus observés, selon une arcade (maxillaire, mandibulaire) ou un côté (droit, gauche),
- la distribution des colorations à la surface des dents (faces vestibulaire, linguale, occlusale, mésiale et distale) et leurs étendues (1/3 coronaire, 1/3 médian, 1/3 cervical),
- la couleur préférentielle des colorations (blanche, beige, jaune-brune),
- une sélection de PMP présentant des colorations délimitées pouvant s'apparenter à des HMI en vue d'une micro-analyse.

L'examen de quelques spécimens de Jau-Dignac-et-Loirac avait pour objectifs d'identifier des spécimens présentant des colorations taphonomiques avérées et d'étudier la structure des colorations taphonomiques.

### 1.3. Critères enregistrés

Les données suivantes sont renseignées pour chaque PMP observée : opacité délimitée de l'émail, opacité diffuse de l'émail, fracture de l'émail, restauration atypique, hypoplasie de l'émail, lésion carieuse et perte *ante-mortem*.

#### 1.3.1. Opacité délimitée de l'émail

Une *opacité délimitée* correspond à un défaut limité, de degré variable, impliquant une modification de la translucidité de l'émail. L'émail défectueux est d'épaisseur normale avec une surface lisse (Weerheijm *et al.* 2003). Les opacités de dimension inférieure à 1mm ont été exclues (Elfrink *et al.* 2015).

##### 1.3.1.1. Couleur de l'opacité

La couleur des défauts peut varier de blanche à beige jusqu'à jaune-brune (Figure 35). Dans la description réalisée par l'EAPD, deux classes sont identifiées : « blanche-beige » et « jaune-brune » (Ghanim *et al.* 2015, Ghanim *et al.* 2017). Nous avons cependant estimé que les couleurs blanche et beige sont suffisamment discernables pour les différencier en 2 classes bien distinctes. Ainsi, trois couleurs sont enregistrées : blanche, beige et jaune-brune (Figure 35).



**Figure 35.** Opacités délimitées de l'émail sur les incisives permanentes maxillaires et mandibulaires de couleurs blanche (\*), beige (\*\*) et jaune-brune (\*\*\*) chez un patient atteint par une HMI (courtoisie Dr Patrick Rouas).

##### 1.3.1.2. Surface impliquée

La surface affectée par l'opacité est renseignée : faces vestibulaire, linguale, occlusale, mésiale et/ou distale (Elfrink *et al.* 2015).

### 1.3.1.3. Localisation sur la surface

La localisation de chaque opacité est enregistrée à savoir au niveau du 1/3 coronaire, du 1/3 médian et/ou du 1/3 cervical (Elfrink *et al.* 2015). Une opacité peut également se situer à cheval sur deux zones. Dans ce cas, les deux zones seront cochées.

### 1.3.1.4. Étendue de l'opacité

L'étendue du défaut sur la dent est évaluée par la surface de l'émail affectée selon les trois modalités suivantes : moins d'un tiers de la surface de la dent est concernée, au moins 1/3 mais moins des 2/3 de la surface dentaire est concernée, au moins 2/3 de la surface dentaire est concernée. La surface totale affectée doit être liée à la surface totale visible de la dent (Ghanim *et al.* 2015).

## 1.3.2. Fracture post-éruptive de l'émail

Une *fracture post-éruptive* de l'émail (Figure 36a) correspond à une perte localisée de la surface de l'émail initialement formé, se produisant après l'éruption de la dent. La perte est souvent associée à une opacité préexistante délimitée. Ce n'est pas forcément avec la mise en occlusion de la dent que l'émail se clivera. Les pressions masticatoires ne sont donc pas seulement incriminées (Weerheijm *et al.* 2003).

## 1.3.3. Restauration atypique

Une *restauration atypique* (Figure 8), de volume souvent important, correspond à une forme de restauration inhabituelle. Dans la plupart des cas, sur les premières molaires permanentes, il y aura des restaurations étendues à la surface saine vestibulaire ou palatine. À la frontière des restaurations, une opacité peut être souvent remarquée. Sur les incisives permanentes, une restauration vestibulaire, non liée à un traumatisme peut parfois se remarquer.

## 1.3.4. Opacité diffuse de l'émail

Les opacités diffuses de l'émail se caractérisent par une modification de la translucidité de l'émail et par une distribution linéaire, inégale ou confluyente, mais il n'y a pas de limite claire avec l'émail normal adjacent (Figure 36b) (Clarkson 1992). La couleur de l'opacité est également enregistrée à savoir blanche, beige ou jaune-brune.

## 1.3.4. Hypoplasie de l'émail

Les hypoplasies de l'émail se caractérisent par un défaut quantitatif de l'émail (*confer* chapitre 2 §2.6.2.) (Figure 36c) (Clarkson 1992).

### 1.3.5. Perte ante-mortem

Les pertes *ante-mortem* (Figure 36d) se différencient des pertes *post-mortem* par un remodelage de l'os alvéolaire et la présence ou non de l'alvéole de la dent perdue (Meller *et al.* 2009).



Figure 36. Critères enregistrés. a. (\*) : fracture post-éruptive de l'émail chez un patient atteint de HMI présents sur une première molaire mandibulaire droite (CHU de Bordeaux, Pôle d'Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France) ; b. (\*) opacité diffuse de l'émail jaune-brune sur une PMP mandibulaire droite (LSS85\_1371, *Museum* de Londres) ; c. (\*) hypoplasies de l'émail sur une PMP mandibulaire droite (FAO90\_2101, *Museum* de Londres) ; d. (\*) perte *ante-mortem* d'une seconde molaire déciduale mandibulaire gauche (FAO90\_1296, *Museum* de Londres).

### 1.3.6. Lésions carieuses

Les lésions carieuses dont le score est strictement supérieur à 2 selon la classification ICDAS II (*International Caries Detection and Assessment System*, (ICDAS foundation)) ont été cotées ce qui correspond à une lésion carieuse causant au minimum une perte de substance amélaire. Au-delà du score 2, une cavitation dans l'émail se crée et pourrait empêcher la visualisation d'éventuelles colorations (Figure 37). Cette classification est un système international intégrant classification des lésions carieuses et gestion rationnelle de la maladie carieuse et de ses lésions. Le but est de faciliter sa généralisation et son intégration en pratique clinique quotidienne afin d'optimiser la prévention et la gestion de la maladie carieuse.

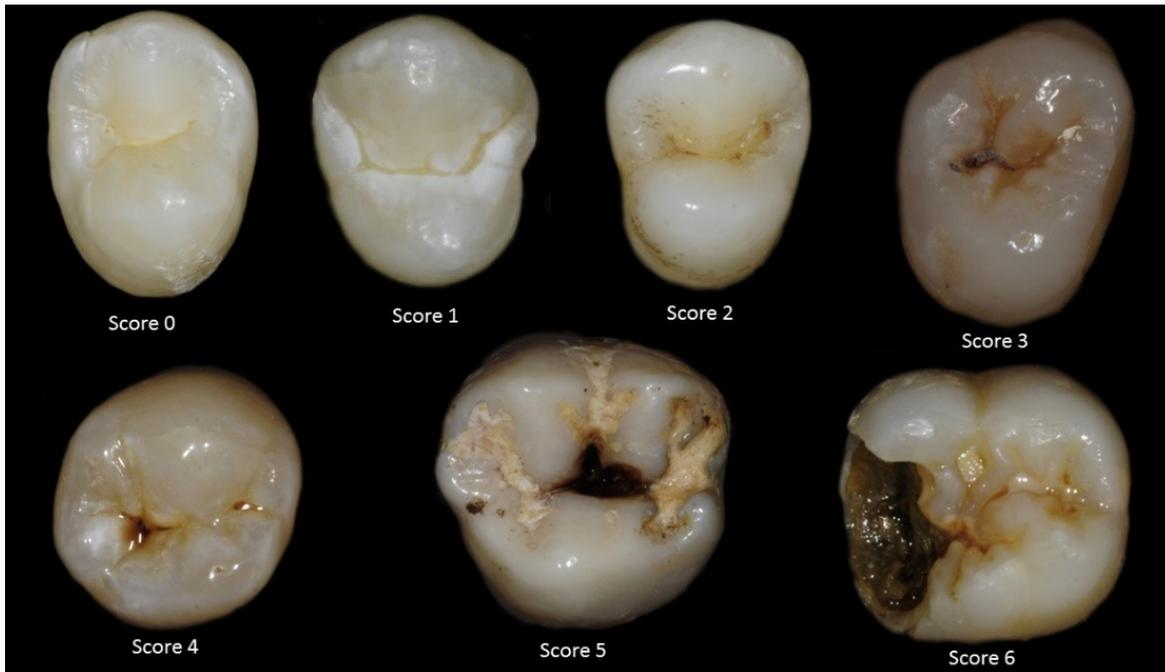


Figure 37. Présentation des différents scores (de 0 à 6) de la classification ICDAS II à partir de dents actuelles (CHU de Bordeaux, Pôle d’Odontologie et santé buccale, hôpital Pellegrin, France).

### 1.3.7. Exemple de cotation des données

Voici un exemple de cotation avec une dent actuelle présentant une HMI (Tableau 9, Figure 38).

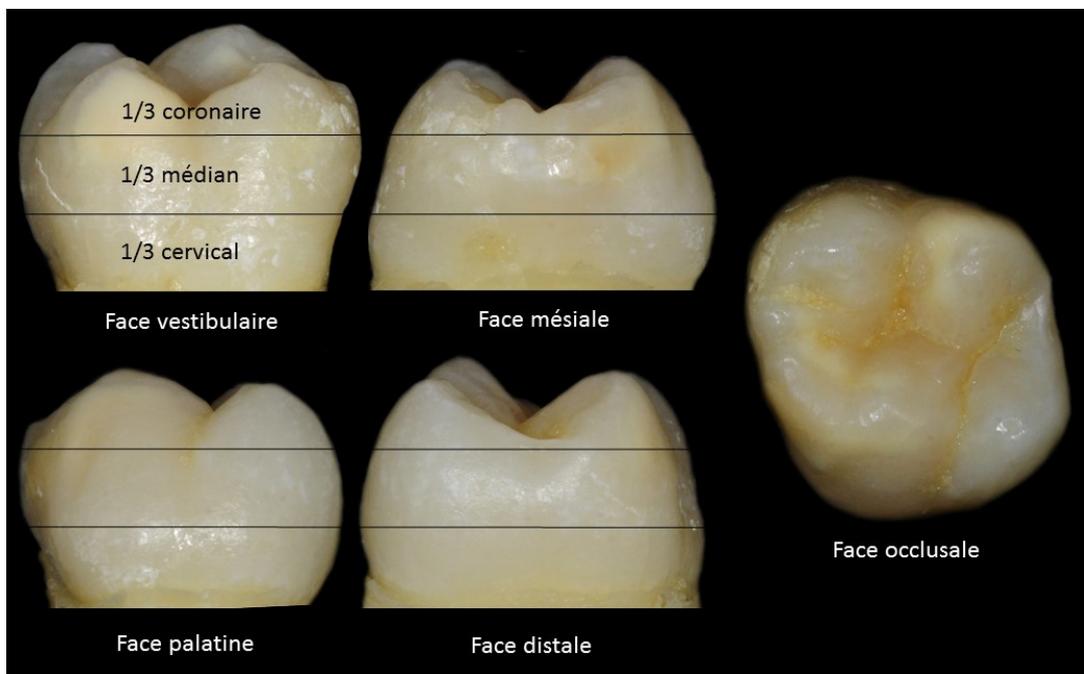


Figure 38. Exemple d’enregistrement des données d’une PMP maxillaire gauche affectée par une HMI (Melbourne dental school, Australie).

critères	code	ACT_1	ACT_1	ACT_1	ACT_1
Numéro de la dent	N°	26	26	26	26
Numéro de la tache	n°	1	2	3	4
Face occlusale	FO	0	0	0	1
Face vestibulaire	FV	1	0	0	0
Face linguale/palatine	FL	0	0	1	0
Face mésiale	FM	0	1	0	0
Face distale	FD	0	0	0	0
Opacité délimitée de l'émail	opde	1	1	1	1
Fracture post-éruptive de l'émail	fpe	0	0	0	0
Restauration atypique	ra	0	0	0	0
Opacité délimitée blanche	bl	0	0	0	0
Opacité délimitée beige	be	1	0	1	1
Opacité délimitée jaune-brune	jb	0	1	0	0
Opacité sur le 1/3 coronaire	cor	1	1	1	1
Opacité sur le 1/3 médian	med	1	1	0	0
Opacité sur 1/3 cervical	cerv	0	0	0	0
Opacité étendue au 1/3 de la surface	1/3	1	1	1	1
Opacité étendue au 2/3 de la surface	2/3	0	0	0	0
Opacité étendue à la totalité de la surface	3/3	0	0	0	0
Opacité diffuse de l'émail	opdi	0	0	0	0
Opacité diffuse blanche de l'émail	bl	0	0	0	0
Opacité diffuse beige de l'émail	be	0	0	0	0
Opacité diffuse jaune-brune de l'émail	jb	0	0	0	0
Hypoplasie de l'émail	hypl	0	0	0	0
Perte <i>ante-mortem</i>	pam	0	0	0	0
Carie de score ICDAS>2	ic	0	0	0	0

Tableau 9. Enregistrement des données sur une PMP maxillaire gauche affectée par une HMI. 1 : présence, 0 : absence.

## 2. Examen photographique

Pour chaque individu présentant une coloration sur au moins une PMP, des photographies des maxillaires et de la mandibule ont été prises. Pour les séries de Sains-en-Gohelle, Beauvais, Cognac-Saint-Martin et Jau-Dignac-et-Loirac, un retrait minutieux et non destructif des PMP de l'alvéole a été effectué. En raison de l'édification incomplète de la plupart des PMP, le retrait de l'alvéole a été réalisé par simple traction verticale de la couronne dentaire et maintien des tables osseuses afin de ne pas les fracturer. Par conséquent, les PMP présentant une résistance au retrait n'ont pas pu être incluses dans l'échantillon de dents à analyser en microtomographie et spectroscopie. Il faut noter qu'en raison de la taille importante de l'échantillon observé, toutes les PMP n'auraient pu être analysées en raison de la multiplication des techniques d'analyse, du temps de traitement et d'analyse, ainsi que du coût de certaines techniques (microtomographie et fluorescence X). Le matériel photographique correspond à un boîtier reflex Nikon<sup>MD</sup> (Japon) D90, un flash annulaire macro Metz<sup>MD</sup> (Allemagne) et un objectif Tamron<sup>MD</sup> (Japon) SP AF 90 mm/2,8 (Figure 39).



Figure 39. Matériel photographique utilisé avec de gauche à droite un boîtier reflex Nikon<sup>MD</sup> D90, un objectif Tamron<sup>MD</sup> SP AF 90 mm/2,8 et un flash annulaire macro Metz<sup>MD</sup>.

Les dents qui ont été isolées en vue d'une micro-analyse ultérieure ont été photographiées sous 5 vues (occlusale, mésiale, distale, vestibulaire et linguale) sur un fond noir mat (papier canson<sup>MD</sup>, France) avec l'ajout d'une échelle photographique millimétrique de 5cm (Figure 40).



Figure 40. Photographies d'une PMP maxillaire gauche (SeG\_407, Sains-en-Gohelle, France) sous 5 vues (de gauche à droite occlusale, vestibulaire, mésiale, linguale et distale) sur un fond noir de type papier Canson<sup>MD</sup> (France) mat noir avec l'ajout d'une échelle photographique millimétrique de 5cm.

## 3. Examen en microscopie électronique à balayage

---

Dans notre étude, l'utilisation de la microscopie électronique à balayage associée à un détecteur RX à dispersion d'énergie (MEB-EDX) a pour objectif d'étudier la composition chimique de l'émail sain et affecté. Un microscope électronique à balayage à pression variable Jeol<sup>MD</sup> (USA) associé à un détecteur RX à dispersion d'énergie (Figure 41) installé à l'IRAMAT-CRP2A (Université de Bordeaux Montaigne, UMR 5060) a été utilisé avec la participation de Yannick Lefrais (ingénieur d'étude, IRAMAT-CRP2A, UMR 5060).

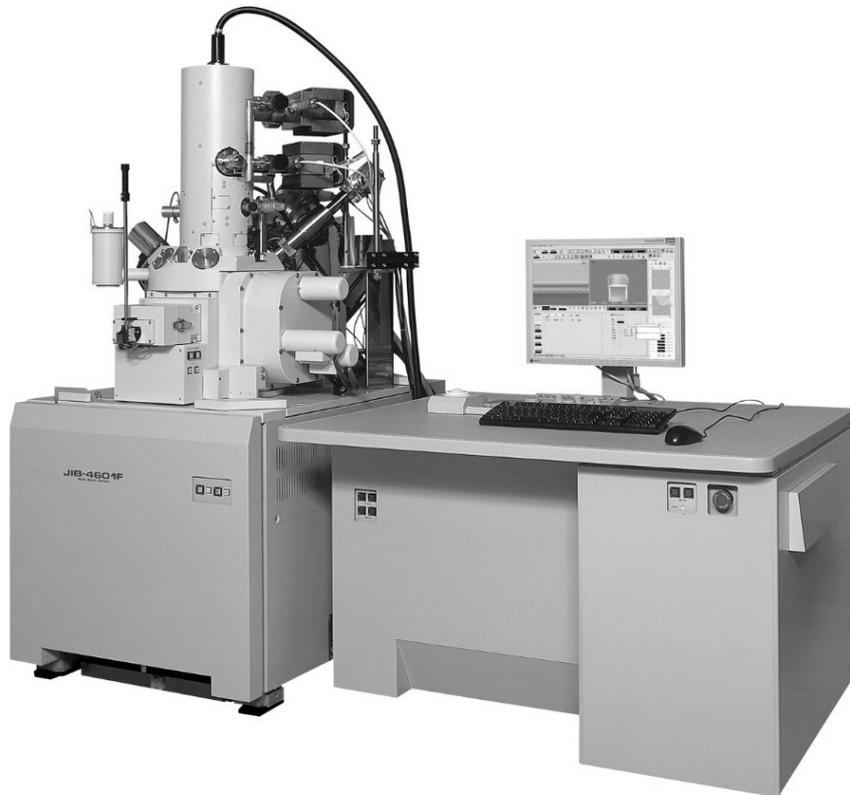


Figure 41. Microscope électronique à balayage à pression variable Jeol<sup>MD</sup> (USA) associé à un détecteur RX à dispersion d'énergie.

### 3.1. Acquisition des données

#### 3.1.1. Principe de fonctionnement

- La microscopie électronique à balayage (MEB)

L'image en MEB est une image reconstituée : une sonde (le faisceau d'électrons) balaye la surface de l'échantillon, un détecteur récupère de manière synchrone un signal induit par cette

sonde pour en former une image, cartographie de l'intensité de ce signal. Le microscope électronique à balayage est constitué d'une source d'électrons qu'un jeu de lentilles de type « condenseur » focalise sur un diaphragme. Une deuxième lentille « objectif » refocalise ce faisceau sur l'échantillon en un spot très fin. Un jeu de bobines de déflexion permet de déplacer le faisceau et donc de balayer l'échantillon. Ceci forme la sonde (Goldstein *et al.* 2012b).

Sous l'impact du faisceau d'électrons, il y a essentiellement :

- rétrodiffusion d'électrons du faisceau incident avec plus ou moins de perte d'énergie,
- émission d'électrons secondaires de faible énergie, provenant des couches externes des atomes de l'échantillon,
- émission de rayons X, concurrentiellement avec les électrons Auger,
- émission de photons UV-visible,
- écoulement d'un courant vers la masse.

Tous ces signaux peuvent servir à former une image (Figure 42). Le détecteur de base du microscope électronique à balayage récupère un mélange en proportion variable d'électrons secondaires et d'électrons rétrodiffusés, proportion dépendant de l'énergie primaire, de la distance échantillon-objectif, de l'angle d'incidence du faisceau primaire, et du matériau observé. D'autres détecteurs permettent de discriminer les électrons secondaires des électrons rétrodiffusés. Le contraste de l'image (c'est à dire la variation locale de l'émission électronique) provient d'effets topographiques, chimiques, et structuraux, régissant la rétrodiffusion et l'émission secondaire. Les aspects topographiques sont en général les éléments pris en compte en premier (Hawkes et Reimer 2013b).

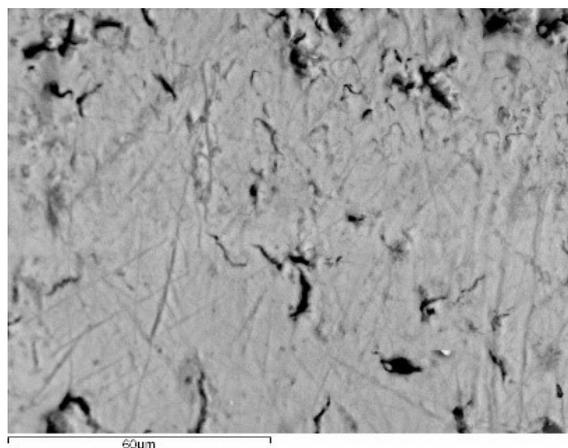


Figure 42. Image en MEB de la surface d'émail sain d'une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG\_782, Sains-en-Gohelle).

➤ La micro-analyse X (EDX)

La micro-analyse X permet une analyse élémentaire par détection des raies caractéristiques des éléments en présence. Elle permet des analyses ponctuelles avec une résolution spatiale de l'ordre de  $1\text{mm}^3$ . Elle est qualitative et quantitative. Lorsqu'un faisceau d'électrons interagit avec l'échantillon à analyser, des électrons des niveaux de cœur sont éjectés. La désexcitation de l'atome ainsi ionisé se fait par transition d'un électron d'un niveau externe vers la lacune. L'énergie disponible est alors libérée par l'émission soit d'un photon X, soit d'un électron Auger. Les photons X sont caractéristiques de la transition et donc de l'élément concerné. L'indexation des raies se fait soit en énergie (en eV), soit en longueur d'onde associée (en Å ou nm) (Goldstein *et al.* 2012c). Ces raies caractéristiques se superposent au spectre d'émission continu de rayons X (*bremsstrahlung* ou rayonnement continu de freinage, souvent appelé improprement bruit de fond). L'émission X émergente (rayonnement caractéristique et *bremsstrahlung*) provient d'un volume d'interaction électrons-échantillon appelé poire de diffusion. Sa dimension (de l'ordre du  $\text{mm}^3$ ) et sa forme dépendent de l'énergie primaire et de la densité de l'échantillon (Hawkes et Reimer 2013a). L'appareil est constitué d'une source d'électrons dont l'énergie primaire est choisie entre quelques keV et 35keV, et focalisée sur l'échantillon. Un spectromètre associé à un ordinateur collecte les photons X et permet de traiter les données. Le spectromètre à dispersion de longueur d'onde est un monochromateur qui réalise un tri séquentiel en longueur d'onde selon la loi de Bragg. Il détecte les éléments du béryllium (Be, Z=4) à l'uranium (U, Z=92), avec une résolution en énergie de 5 à 30eV, un rapport pic sur fond de 100/1 à 1000/1 et une limite de détection de l'ordre de 100ppm (Goldstein *et al.* 2012a).

### ***3.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons***

Nous avons réalisé nos essais sans métalliser nos échantillons afin de ne pas endommager les dents archéologiques. Ce traitement spécifique est utilisé pour rendre conducteur le matériau afin que les électrons puissent circuler au sein du matériau et ainsi optimiser les images en MEB. Un microscope électronique à balayage à pression variable Jeol<sup>MD</sup> 6460LV en mode *low vacuum* (15Pa) avec une tension de 20keV et un détecteur RX à dispersion d'énergie refroidi par effet Peltier ont été utilisés.

Les dents ont été fixées à l'aide de plastiline<sup>MD</sup> sur le porte-échantillon de la platine afin que la surface d'intérêt soit perpendiculaire au faisceau (Figure 43). Une fois l'échantillon placé dans la chambre, le vide a été obtenu au bout de 3 heures suite à un refroidissement par effet

Peltier (déplacement de chaleur en présence d'un courant électrique) pour un échantillon comprenant 3 dents.

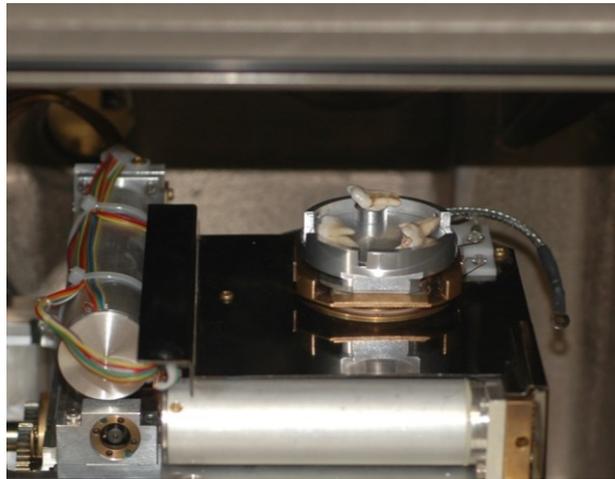


Figure 43. Disposition de trois dents sur le porte-échantillon de la platine du microscope électronique à balayage.

A partir de l'image générée par le microscope électronique à balayage et par des zooms successifs, nous localisons la zone d'intérêt (Figure 44) et analysons la composition en éléments chimiques que nous avons préalablement définie à savoir : F, Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, Ca, Sc, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn (*c'est-à-dire la composition de l'émail, confer chapitre 2 §1.2.3.*). Nous obtenons un spectre (Figure 45) et pouvons extraire ces données sous la forme d'un tableau.

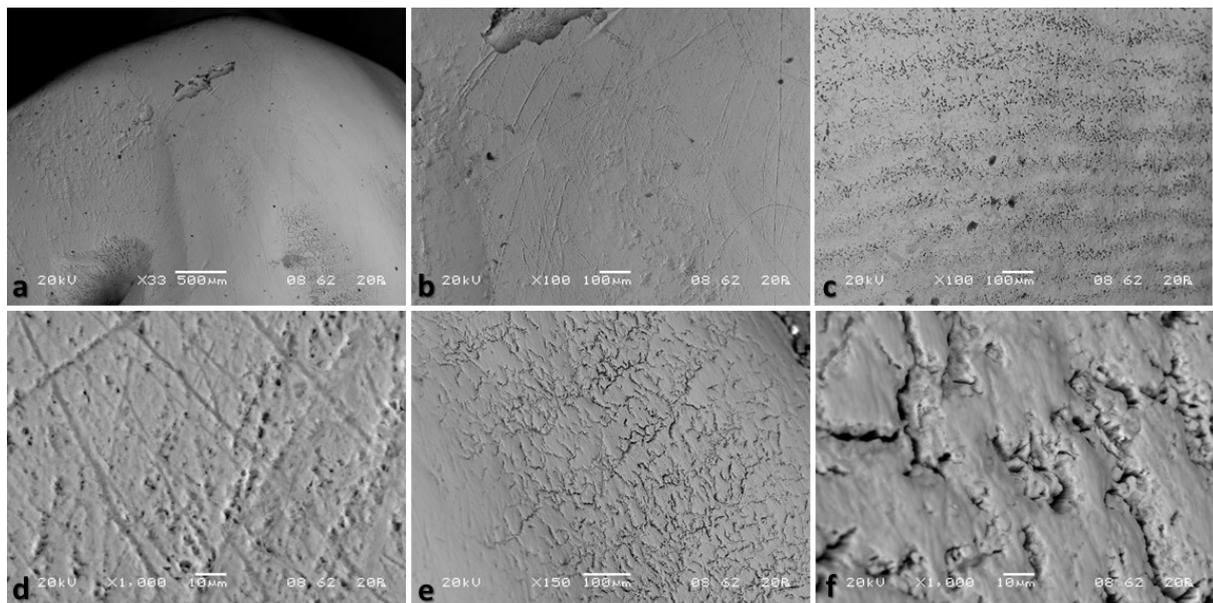


Figure 44. Images en MEB suite à des zooms successifs d'une zone saine située sur une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG\_782, Sains-en-Gohelle).

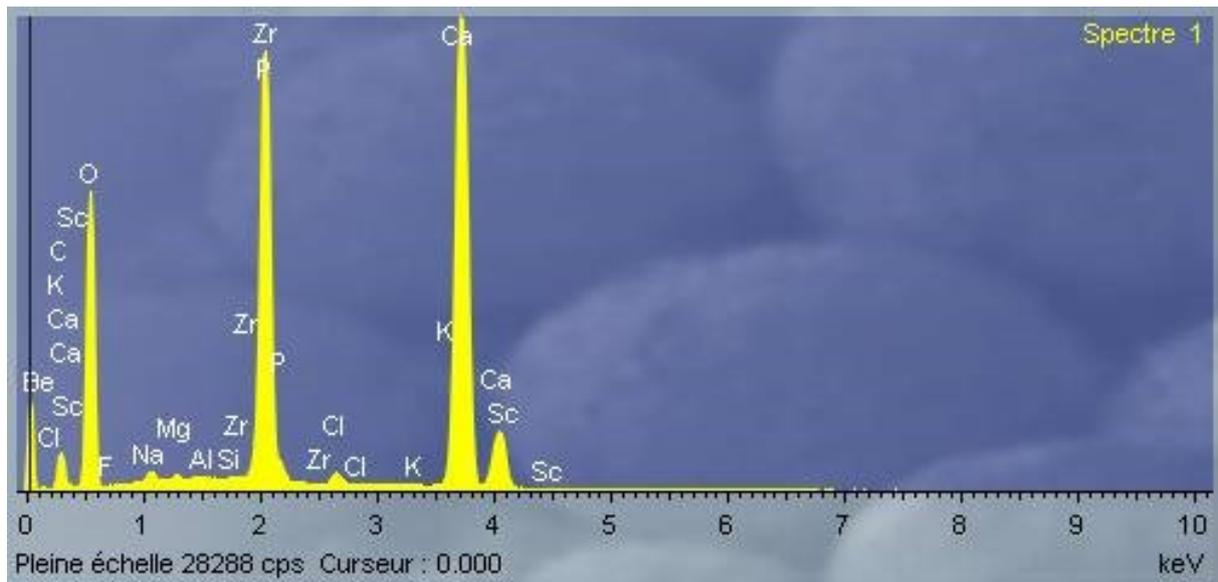


Figure 45. Spectre de la composition chimique généré par la MEB-EDX d'une zone saine située sur une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG\_782, Sains-en-Gohelle).

Des essais ont été réalisés sur des dents actuelles saines ou atteintes par une HMI et des dents archéologiques.

### 3.2. Traitement des données

Les images en MEB ont été analysées afin de distinguer des structures particulières (prismes et substances interprismatiques). Les compositions chimiques obtenues en pourcentage massique (w%) des zones d'intérêt ont été enregistrées dans un tableur Excel<sup>MD</sup> (Microsoft Office, WA, USA). Le ratio Ca/P a été calculé pour chaque analyse.

### 3.3. Analyses des données

Dans un premier temps, les ratios en Ca/P ont été étudiés afin de répondre à la question suivante : existe-t-il des variations du ratio Ca/P entre une zone hypominéralisée et une zone saine au sein d'une même dent atteinte par une HMI ?

Dans un second temps, les concentrations relatives de tous les éléments chimiques recherchés ont été comparées entre des zones saines issues d'une dent actuelle saine ainsi qu'entre des zones saines et colorées issues de dents actuelles hypominéralisées ou des zones colorées par taphonomie de dents archéologiques.

## 4. Examen en microtomographie

---

Dans notre étude, la microtomographie ( $\mu$ CT) nous permettra d'apprécier les différences de densité minérale entre deux zones distinctes sur une même dent. Sur une dent actuelle hypominéralisée, une zone hypominéralisée *versus* une zone saine seront analysées. Dans le cas de dents archéologiques présentant une coloration, une zone colorée *versus* une zone non colorée seront étudiées sur une même dent. Un microtomographe à haute résolution du plateau PLACAMAT (UMS 3626-CNRS, Université de Bordeaux, équipement : microtomographe X GE phoenix<sup>MD</sup> V/TOME/SX, USA) a été utilisé pour réaliser nos analyses (Figure 46). Ce microtomographe est financé par le conseil régional d'Aquitaine et le cluster d'excellence des sciences archéologiques de Bordeaux (Labex, LaScArBx). Les numérisations ont été effectuées par Nicolas Lenoir (Ingénieur de Recherche, PLACAMAT, UMS 3626-CNRS/Université de Bordeaux) et Ronan Ledevin (Ingénieur de Recherche, LabEx LaScArBx, PACEA, Université de Bordeaux, UMR 5199).



Figure 46. Équipement : microtomographe X GE phoenix<sup>MD</sup> V/TOME/SX (PLACAMAT, UMS 3626).

### 4.1. Acquisition des données

#### 4.1.1. Principe de fonctionnement

Un examen tomographique constitue l'enregistrement d'un nombre variable (de projections de rayons X sur un spécimen (dépendant de la résolution spatiale souhaitée) selon différents angles (Spoor *et al.* 1993). Les projections sont formées sur un détecteur par le faisceau traversant l'objet, où les différences d'atténuation des rayons X sont proportionnelles aux variations topographiques de densité (Davis et Wong 1996).

À partir des projections obtenues, une représentation volumétrique 3D est reconstruite. Trois étapes de base sont impliquées dans la microtomographie : l'acquisition (numérisation), la reconstruction et la génération d'une image. Nous avons ensuite procédé à des traitements numériques d'images.

#### **4.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons**

Les dents ont été numérisées par  $\mu$ CT au plateau PLACAMAT (UMS 3626). Le paramétrage est le suivant : 120 kV, 83  $\mu$ A, temps d'exposition de 2s, 4 intégrations/projection, 2550 projections/360° et filtre de cuivre de 0,1mm. Le volume final a été reconstruit en format 16 bits unsigned avec une taille de voxel moyenne de  $7 \times 7 \times 7 \mu\text{m}^3$  pour les dents isolées. Cette méthode est non destructive et ne nécessite aucune préparation de notre échantillon.

## **4.2. Traitement des données**

### **4.2.1. Recadrage et réorientation des coupes**

Les images  $\mu$ CT ont été compilées à l'aide du logiciel Avizo<sup>MD</sup> 7.0.1. (*Visualization Sciences Group*, FEI Company, OR, US) et enregistrées en format *.am*. Les images sont ensuite recadrées grâce à la fonction *crop* de l'éditeur de segmentation en délimitant la couronne dentaire, ce qui réduit de manière significative la taille des fichiers. Une réorientation des coupes est effectuée en fonction d'un plan de référence tangent à la ligne cervicale (collet) placé selon la méthode d'Olejniczak (Olejniczak 2006, Olejniczak *et al.* 2008). Ce plan est défini par le placement de 3 points sur le collet de la dent à partir d'une reconstruction 3D *iso-surface* de la dent : deux points sur le collet de la face vestibulaire et un point sur le collet de la face linguale ou palatine. Ce plan de coupe est ensuite déplacé à l'aide des options *rotate* et *translate* afin d'être le plus proche possible de la ligne du collet. Cette coupe est ensuite enregistrée et l'ensemble des coupes sont réorientées en fonction de ce plan de référence grâce à la fonction *resampled transformed image* avec une interpolation *lanczos*, un mode *extended* et un *padding value* de 0.

### **4.2.2. Enregistrement des coupes en 2D**

Une fois la pile de données reconstruite, un enregistrement des coupes horizontales est effectué au format TIFF. Ces coupes seront traitées à l'aide du logiciel ImageJ<sup>MD</sup> 1.45 software (NIH, Maryland, USA) afin d'obtenir des histogrammes des niveaux de gris d'une ligne continue allant de la JED à la surface de la dent.

### 4.3. Analyses des données

#### 4.3.1. Mesures 2D

Le premier objectif est de connaître les valeurs du profil de la densité minérale en fonction de la distance à la JED. La pile de coupes horizontales enregistrées au format TIFF (2D) est ouverte dans le logiciel ImageJ<sup>MD</sup> 1.45 software (NIH, Maryland, USA). Une coupe passant par la zone d'intérêt est repérée à l'aide des photographies de la zone, préalablement réalisées pour chaque dent. Dans l'outil *image*, puis *scale*, une mise à l'échelle est opérée. Sur cette coupe, une ligne partant de la dentine jusqu'à la surface de la dent est tracée. Grâce à la fonction *plot profile*, un histogramme des niveaux de gris est obtenu (Figure 47). Les valeurs en abscisse (distance) et en ordonnée (niveaux de gris) sont ensuite reportées dans un tableau. Les valeurs seuils entre les différents composants (émail, dentine et air) sont repérées et seules les données relatives à l'émail (JED à la surface) sont conservées.

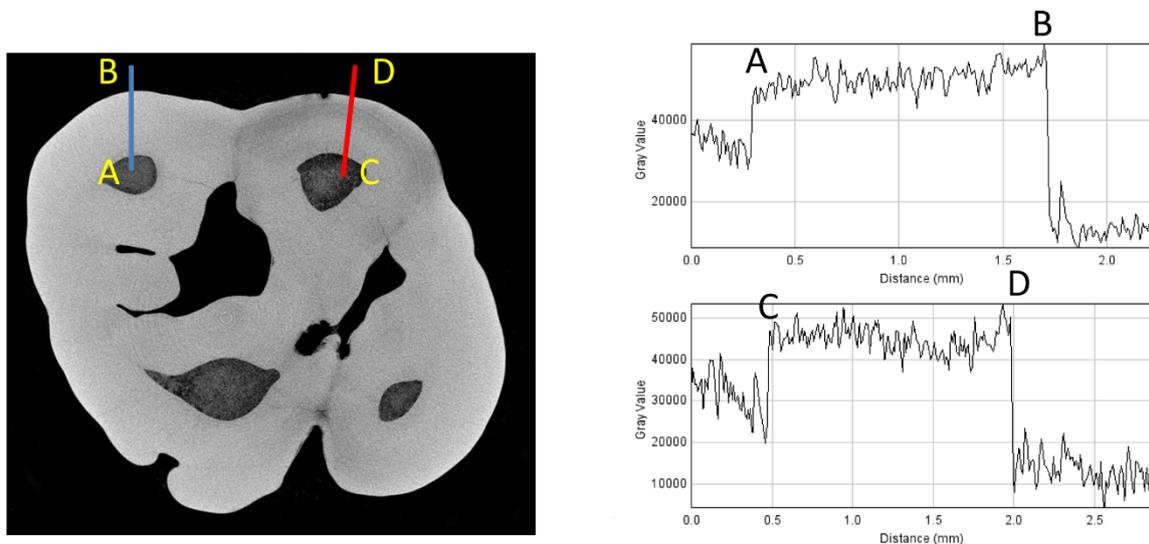


Figure 47. À gauche : coupe horizontale d'une première molaire maxillaire gauche permanente archéologique (SeG\_407, Sains-en-Gohelle, France) sur laquelle le trait de mesure est tracé de la dentine (A et C) jusqu'à la surface (B et D), en rouge dans l'émail coloré et en bleu dans l'émail sain. À droite : histogrammes représentant les niveaux de gris en fonction de la localisation des mesures sur le trait.

Tous les 7 $\mu$ m une DM est mesurée entre la JED et la surface de l'émail. Par exemple, dans 1mm d'émail, plus de 140 mesures sont prises. Cette distance variant en fonction de l'épaisseur de l'émail, il est nécessaire de traiter ces données de manière reproductible et non chronophage afin de sélectionner 20 points de mesures équidistants entre la JED et la surface de l'émail. Une formule a ainsi été élaborée par Frédéric Santos (Ingénieur d'étude en statistiques, CNRS, PACEA UMR5199) et utilisée avec le logiciel de statistique R<sup>©</sup> (Team 2013). Le script est présenté en Annexe 5 .

### 4.3.2. Mesures 3D

L'objectif de ces mesures en 3D est de quantifier la densité minérale de l'émail et de comparer une partie hypominéralisée/colorée et une partie saine d'une même dent. Dans l'onglet *multi-thresholding* du logiciel Avizo<sup>MD</sup> 7.0.1., une coupe passant par le défaut est sélectionnée. Avec l'outil *square brush* en taille 7, un carré adjacent à la surface de l'émail est placé. Puis, sur la coupe 1+9, un second carré est placé sur la même position. L'outil *interpolation* va permettre de relier ces deux carrés en passant par les coupes 1 à 10. Un parallélépipède rectangle en 3D est ainsi formé. Afin de faciliter la lecture, ces parallélépipèdes rectangles seront appelés des cubes (C) même si leurs faces ne sont pas strictement égales. Cette zone est ensuite attribuée à un nouveau matériel nommé *colo1* pour le premier cube placé dans la zone colorée ou hypominéralisée. Cette même zone placée dans la partie saine de la dent va être nommée *norm1*. Avec cette technique, 5 cubes vont être segmentés dans ces deux zones (colorée et saine) en 5 positions distinctes (Figure 48) :

C1 : surface de l'émail

C2 : JED

C3 : à mi-distance entre C1 et C2

C4 : à mi-distance entre C1 et C3

C5 : à mi-distance entre C3 et C2

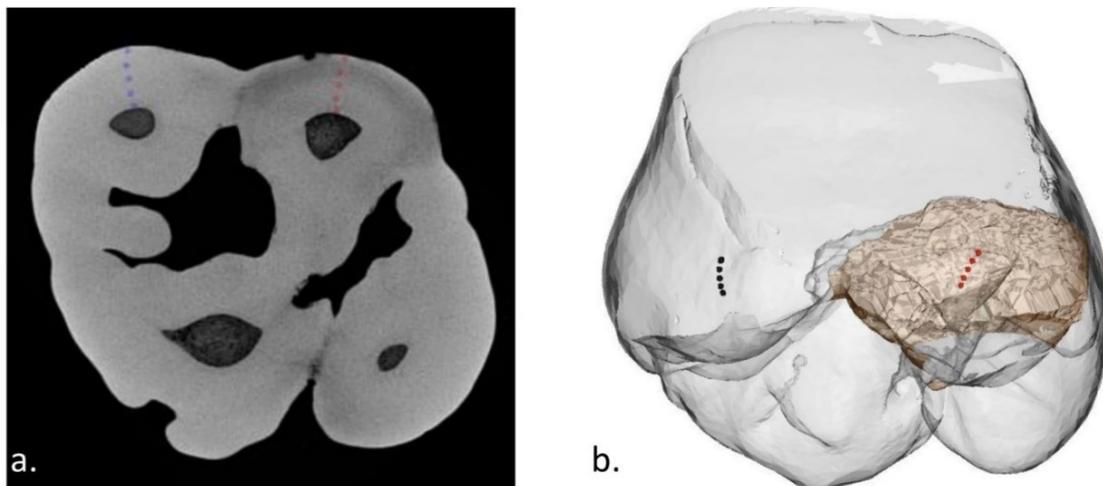


Figure 48. Coupe microtomographique (a) et représentation en 3D (b) d'une première molaire maxillaire gauche permanente présentant une opacité illustrée en b par une coloration brune (SeG\_407, Sains-en-Gohelle, France). En rouge les cubes issus de l'émail coloré et en bleu ou noir les cubes issus de l'émail sain.

Après avoir obtenu 10 matériaux (*colo1*, *colo2*, *colo3*, *colo4*, *colo5*, *norm1*, *norm2*, *norm3*, *norm4* et *norm5*), nous pouvons mesurer la densité minérale moyenne contenue à l'intérieur de chaque matériau, à partir du label et des fonctions *measure and area* puis *materials and statistics*. Ces données seront ensuite enregistrées dans un tableau et comparées entre-elles.

## 5. Examen en spectroscopie Raman

Dans notre étude, la spectroscopie Raman nous permettra de comparer les groupements carbonates et phosphates (molécules constituant l'émail, *confer* chapitre 1 §1.2.3.) entre deux zones distinctes sur une même dent. Sur une dent actuelle hypominéralisée, une zone hypominéralisée *versus* une zone saine seront analysées. Dans le cas de dents archéologiques présentant une coloration, une zone colorée *versus* une zone non colorée sur une même dent seront étudiées. Le spectromètre XploRA<sup>MD</sup> (Horiba Jobin-Yvon, Japon ; Figure 49) situé sur la plateforme du groupe de spectroscopie moléculaire de l'Institut de Sciences Moléculaires (ISM, UMR 5255 CNRS) a été utilisé dans notre étude. La spectroscopie Raman a été réalisée en collaboration avec le Pr Vincent Rodriguez (ISM, UMR 5255 CNRS).



Figure 49. Spectromètre XploRA<sup>MD</sup> (Horiba Jobin-Yvon, Japon) (ISM, UMR 5255 CNRS). 1 : table motorisée (XY), 2 : objectif, 3 : molette de réglage des Z.

### 5.1. Acquisition des données

#### 5.1.1. Principe de fonctionnement

En spectrométrie Raman, l'analyse se fait par excitation du matériau. Porté à un niveau énergétique virtuel par une puissante source lumineuse monochromatique de type laser, il

réémet ensuite une radiation qui est collectée puis analysée par un détecteur (Matthaus *et al.* 2008). Cette radiation comporte deux types de signaux. Le premier, très majoritaire, correspond à la diffusion Rayleigh : la radiation incidente est diffusée élastiquement sans changement d'énergie donc de longueur d'onde. Toutefois, dans un nombre très limité de cas, des photons peuvent interagir avec la matière. Celle-ci absorbe (ou cède) de l'énergie aux photons incidents produisant ainsi les radiations Stokes (ou anti-Stokes). La variation d'énergie observée sur le photon nous renseigne alors sur les niveaux énergétiques de rotation et de vibration de la molécule concernée. Dans le cadre de la spectrométrie Raman, on s'intéresse aux énergies de vibration et de rotation, très faibles, en comparaison de celles des photons incidents. (Kong et Notingham 2016)

Les informations apportées par la spectroscopie Raman sont relativement étendues :

- identification de phases ou de composés chimiques,
- caractérisation des matériaux,
- détermination de la structure moléculaire,
- étude des systèmes amorphes et cristallins.

Le spectre Raman d'un composé indique donc aussi bien le type de liaison d'un composé que sa structure cristalline (Tsuda et Arends 1997).

### **5.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons**

Des tests préliminaires ont dû être effectués afin de définir les paramètres qui nous permettraient d'obtenir des spectres lisibles des domaines d'intérêt, à savoir les longueurs d'onde des carbonates et des phosphates (fréquence de 200 à 1200 $\text{cm}^{-1}$ ). Afin de pallier au phénomène de phosphorescence des dents archéologiques (du à la pollution en surface par des sédiments), nous avons procédé à une étape de sonification pendant 30 minutes à 40°C. Les dents ont ensuite séché à l'air libre.

Dans notre étude, les paramètres optimums que nous avons déterminés sont décrits ci-dessous (Tableau 10). Une source à onde continue (CW) laser à 785 nm (proche infrarouge) sert à minimiser les effets de fluorescence. Un microscope confocal, constitué d'une platine réglable (avec un pas de 0,1 $\mu\text{m}$ ) motorisée en X et Y et manuelle pour les Z, a permis des investigations en profondeur (Figure 49). Le spectromètre incluait un réseau de diffraction à 1200 traits/mm et un détecteur CCD (dispositif à transfert de charge) refroidi à l'air. La puissance du laser était de 35mW pour tous les échantillons. Les spectres Raman non polarisés ont été mesurés sur la gamme de fréquences 200-1200 $\text{cm}^{-1}$  avec une résolution spectrale >4,5 $\text{cm}^{-1}$ .

Fente 100	Trou 300
Laser 785nm (proche infrarouge)	Filtre 100%
Spectromètre $767\text{cm}^{-1}$	1200T
Objectif x50	Table motorisée XY (pas de $0,1\mu\text{m}$ )

**Tableau 10. Paramètres enregistrés pour les analyses en spectrométrie Raman.**

Chaque spectre est une moyenne de 6 spectres pris toutes les 45s permettant d'améliorer le rapport signal/bruit des spectres. En augmentant le temps d'acquisition, nous améliorons la qualité du spectre. Il faut donc prendre en considération la taille de l'effectif des dents à analyser et la qualité des spectres. Nous avons réalisé 3 mesures dans chaque zone saine et colorée. Ces mesures ont été réalisées à 3 profondeurs de pénétration : en surface, à  $10\mu\text{m}$ , et à  $20\mu\text{m}$  avec un objectif x50 (ouverture numérique de 0,45). En augmentant la hauteur de la platine réglable du microscope de  $10\mu\text{m}$ , nous avons pu réaliser des mesures sur ces 3 niveaux de profondeurs sans destruction de l'échantillon. Au-delà de  $20\mu\text{m}$ , l'énergie détectée n'était pas suffisante pour obtenir des spectres interprétables.

## 5.2. Traitement des données

Les données ont été traitées à l'aide du logiciel Labspec<sup>MD</sup> (Horiba, Japon). Dans un premier temps, une correction de la ligne de base (*type : ligne ; degré : 8*) a été effectuée, entraînant une correction artificielle des phénomènes parasites (luminescence et phosphorescence). Grâce à la fonction *recherche de pic et fitting*, une déconvolution des pics est réalisée c'est à dire que les différents pics d'intérêt sont isolés avec les paramètres suivants : *fonction=gauss Loren* (Figure 50).

Les longueurs d'onde références de nos groupements moléculaires de phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) et de carbonates ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) représentées Figure 51 sont (Schulze *et al.* 2004) :

- $\text{U}_1\text{PO}_4^{3-}=960\text{cm}^{-1}$
- $\text{U}_2\text{PO}_4^{3-}=431\text{cm}^{-1}$
- $\text{U}_3\text{PO}_4^{3-}=1045\text{cm}^{-1}$
- $\text{U}_4\text{PO}_4^{3-}=591\text{cm}^{-1}$
- $\beta\text{-Type CO}_3^{2-}=1070\text{cm}^{-1}$

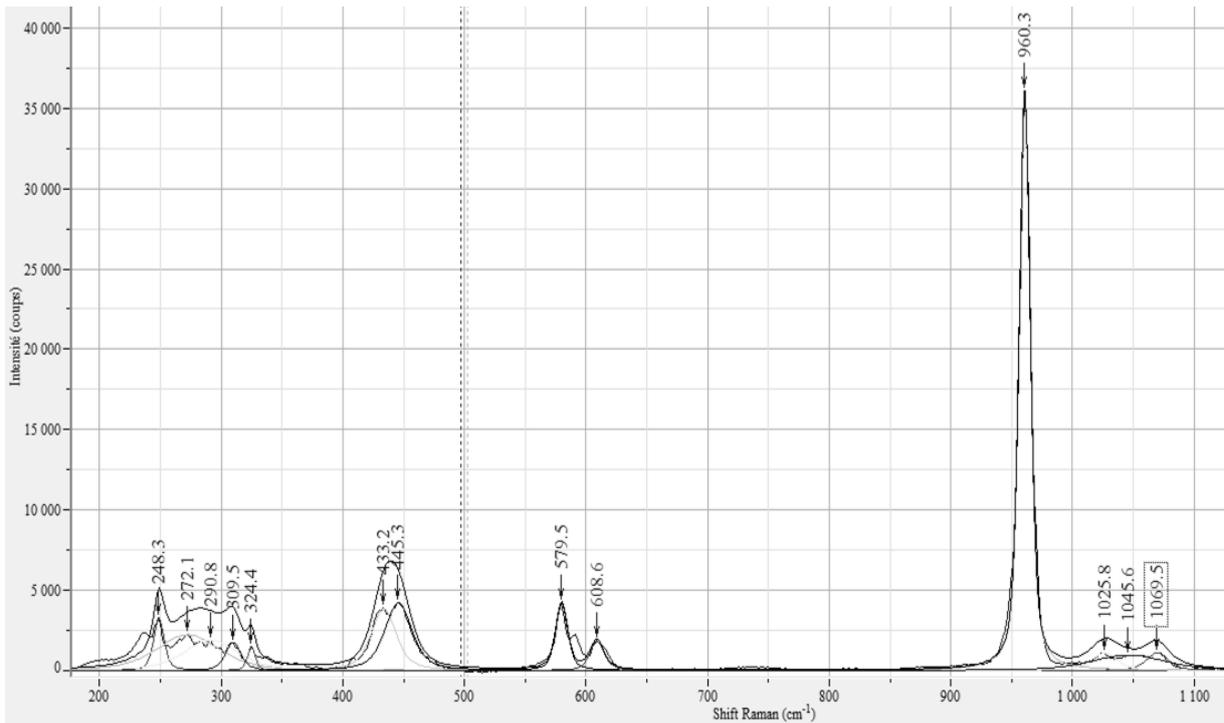


Figure 50. Spectre représentant la déconvolution des pics semi-automatique en fonction de leur longueur d'onde (abscisse) et de leur intensité (ordonnée).

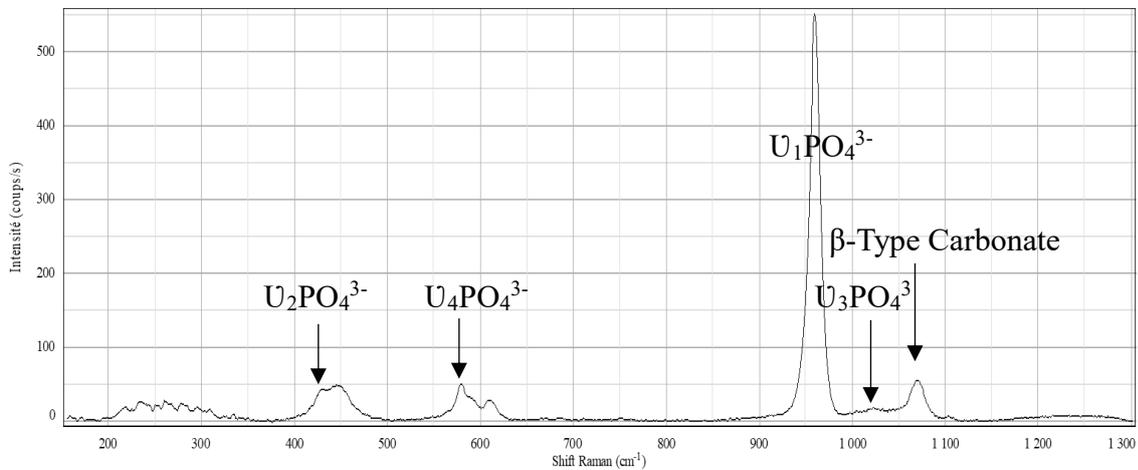


Figure 51. Identification des différents groupements moléculaires à partir d'un spectre issu d'une analyse réalisée dans de l'émail dentaire.

### 5.3. Analyses des données

Grâce au logiciel Labspec<sup>MD</sup> et à la fonction *pics*, nous obtenons pour chaque pic : son amplitude (I), sa largeur à mi-hauteur de la bande (L), et son aire sous la courbe (A). Ces données sont ensuite reportées dans un tableur Excel<sup>MD</sup> et la formule suivante est appliquée pour chaque mesure : A phosphate (960) / A carbonate (1070).

## 6. Examen en fluorescence X

---

Dans notre étude, l'utilisation de la spectroscopie par fluorescence X (XRF) a pour objectif de détecter une possible contamination de l'émail par différents éléments pouvant être contenus dans le sol. Cette technique d'analyse est non-destructive et effectuée sur la surface de l'échantillon. Une zone non colorée et une zone colorée d'une même dent sont comparées. Nous avons utilisé un spectromètre de Fluorescence X à dispersion d'énergie de marque SEIKO<sup>MD</sup> SEA 6000VX (Tokyo, Japon, Figure 52) qui se situe au laboratoire IRAMAT-CRP2A (Université Bordeaux Montaigne, UMR 5060).



Figure 52. Spectromètre de Fluorescence X à dispersion d'énergie SEIKO<sup>MD</sup> SEA 6000VX (Tokyo, Japon) IRAMAT-CRP2A (Université Bordeaux Montaigne, UMR 5060).

### 6.1. Acquisition des données

#### 6.1.1. Principe de fonctionnement

La spectroscopie de fluorescence X est basée sur l'interaction d'un rayonnement X avec les atomes constituant la matière. Les rayons X utilisés sont de longueurs d'onde comprises entre quelques dixièmes et quelques dizaines d'Angström. Comme ces longueurs d'onde sont de l'ordre de la taille d'un atome, les interactions avec les atomes sont relativement fortes. Elles se produisent avec les électrons fortement liés des atomes (issus des couches profondes K, L, M...). Elles conduisent à l'expulsion de ces électrons (ionisation) par effet photoélectrique ainsi qu'à la réorganisation interne des électrons responsables de l'émission d'un rayonnement caractéristique des atomes étudiés. Ceci va permettre de les identifier (aspect qualitatif) : c'est le phénomène de fluorescence X. La mesure de l'intensité des raies caractéristiques va quant à

elle permettre de déterminer la composition centésimale (aspect quantitatif) selon Shackley (2011). Ainsi, lorsque l'on irradie avec des photons ou que l'on bombarde avec des particules de grande énergie (entre 5 et 100keV) un matériau servant de cible, celui-ci émet une fluorescence située dans le domaine des rayons X. Le spectre de cette photoluminescence comporte des radiations dont les longueurs d'onde sont caractéristiques des atomes de ce matériau. La spectrométrie de fluorescence aux rayons X est une technique utilisée pour caractériser les constituants majeurs, mineurs et les traces élémentaires présents dans un échantillon. L'application en analyse chimique consiste à comparer le spectre de fluorescence X émis par l'échantillon inconnu à des spectres de références dont les compositions sont connues ou à des spectres d'éléments purs allant du fluor (Z=9) à l'uranium (Z=92) (Rouessac *et al.* 2004a).

### 6.1.2. Méthodologie appliquée à nos échantillons

Les dents à analyser (archéologiques et actuelles) ont été fixées à l'aide de plastiline<sup>MD</sup> sur la platine support afin que la surface à analyser soit perpendiculaire au laser. À l'aide du microscope, en déplaçant le laser, la zone d'intérêt est choisie (Figure 53) puis l'analyse est lancée. Après plusieurs essais avec l'aide de Yannick Lefrais, nous avons défini des paramètres d'acquisition optimaux : un collimateur de 0,5x0,5mm, un temps d'acquisition de 30 secondes, et l'activation d'anticathodes de Rhodium. Deux conditions expérimentales ont été utilisées : la condition 1 (sans filtre, avec un voltage du tube à 15kV) s'applique pour déterminer les concentrations relatives de P et de Ca, et la condition 2 (avec un filtre Plomb et un voltage du tube à 50kV) est utilisée pour déterminer les concentrations relatives de Sn, Mn, Cu, Zn, Fe, Pb et Sr. Deux mesures par zone ont été effectuées dans l'émail coloré et non coloré sur une même dent.

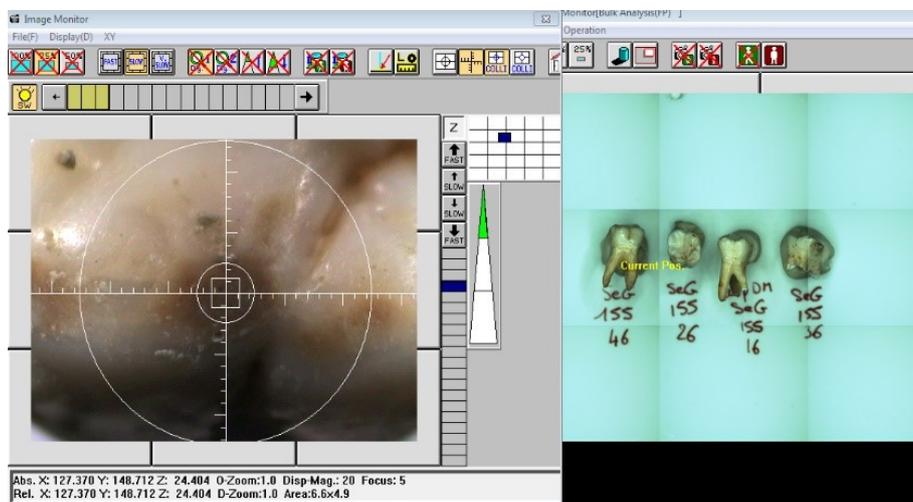


Figure 53. A gauche : image de la zone d'intérêt choisie en déplaçant le laser. A droite : image de la platine support sur laquelle sont placées les dents.

## 6.2. Traitement des données

Les concentrations relatives des différents éléments sont représentées sur des histogrammes intégrant les conditions 1 et 2 (Figure 54) et enregistrées dans un tableur Excel<sup>MD</sup>. Seules les concentrations en pourcentage massique (wt%) sont retenues.

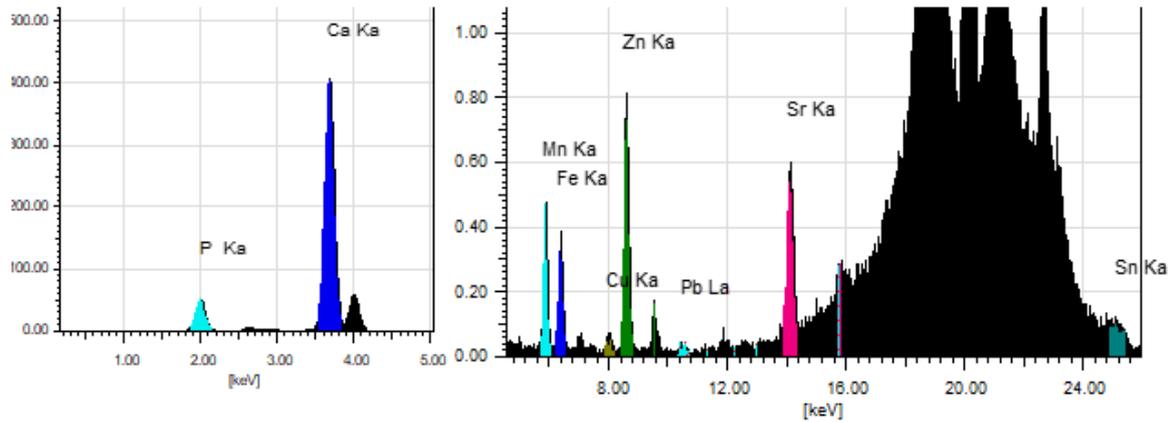


Figure 54. Histogrammes d'une analyse en fluorescence X avec la condition 1 (à gauche) et la condition 2 (à droite) donnant les concentrations relatives des différents éléments chimiques testés au sein d'une zone colorée sur une dent archéologique.

## 6.3. Analyses des données

Les concentrations relatives des éléments recherchés issues des zones saines seront ensuite comparées à celles des zones colorées pour chaque dent à l'aide de tests statistiques.

## 7. Statistiques

---

Le choix des différents tests utilisés a été orienté par Frédéric Santos (Ingénieur d'étude en statistiques, CNRS, PACEA UMR5199). Un récapitulatif des tests utilisés dans cette étude est proposé dans le Tableau 12.

### 7.1. Évaluation de la reproductibilité et de la fiabilité des mesures effectuées

#### 7.1.1. Tests inter- et intra-observateurs

Afin de tester l'accord intra-observateur, le test non-paramétrique du **kappa de Cohen** a été utilisé pour comparer les réponses de chaque examinateur. Le kappa de Cohen est une mesure d'accord entre 2 examinateurs seulement ou entre 2 réponses d'un même examinateur. Pour une mesure de l'accord entre plus de 2 examinateurs, on utilise le kappa de Fleiss (Fleiss 1971). Un test **kappa de Fleiss** a été réalisé pour évaluer le degré d'accord entre les 3 examinateurs (inter-examinateur). Plus le score kappa est élevé, plus le degré d'accord est élevé entre les différentes réponses (Tableau 11).

Score kappa	Interprétation
< 0	Désaccord
0 - 0,2	Accord très faible
0,21 - 0,4	Accord faible
0,41 - 0,6	Accord modéré
0,61 - 0,8	Accord fort
0,81 - 1	Accord presque parfait

Tableau 11. Interprétation du score kappa (Landis et Koch 1977).

#### 7.1.2. Critères de diagnostic des HMI dans les populations du vivant

Les tests inter- et intra-observateurs sont réalisés par trois examinateurs (PR, DM et EG), universitaires habitués à prendre en charge les patients porteurs de cette anomalie de structure, à partir de 9 cas photographiés. Les photographies présentent des cas de HMI et des pathologies dentaires variées (fluorose, lésions carieuses, séquelles de traumatisme). Une deuxième série de test avec une randomisation de l'ordre des cas présentés est réalisée deux semaines après le premier test. La question posée aux examinateurs lorsqu'ils observaient la photographie était la suivante : « Est-ce caractéristique d'une HMI ? ». Trois modalités de réponse étaient possibles ; *oui*, *non* et *je ne sais pas*.

### **7.1.3. Critères de diagnostic des HMI et des colorations taphonomiques dans les populations du passé**

Un questionnaire intégrant des photographies de 12 spécimens archéologiques présentant des anomalies de l'émail (anomalies de forme ou de coloration) a été créé. Il a été envoyé le 23 février 2016 à 76 spécialistes HMI au moyen de *Google formulaires* (Google<sup>MD</sup>, CA, États-Unis). Les participants sélectionnés ont été des auteurs ayant publié sur les HMI en première ou dernière position dans un journal international ayant un impact factor ou dans la revue officielle de l'EAPD (*European Archives of Pediatric Dentistry*). Une recherche a été réalisée le 15 février 2016 sur Medline / Pubmed avec les mots « *enamel AND hypomineralisation* » et 76 auteurs ont été identifiés. Un courriel leur a été envoyé comprenant le lien vers une page internet toujours accessible que nous avons créée (<http://about-mih.webnode.fr/>). Sur ce site, nous expliquons les objectifs de l'étude, nous présentons les participants et en cliquant sur le lien « *I agree with the term above and I want to participate to this study* », l'expert accède au questionnaire. Les questions posées étaient : « *Est-ce caractéristique des lésions HMI?* » et « *Comment avez-vous pris votre décision ?* ». Une seconde relance a été effectuée un mois après la première. Le questionnaire est présenté en Annexe 6. Parmi ce groupe, 19 participants ont répondu. Le formulaire a été clôturé le 30 Avril 2016. Le test du kappa de Fleiss a été effectué entre les 3 réponses possibles pour chaque spécimen (*oui, non et je ne sais pas*). Un second envoi avec un ordre différent des cas est réalisé deux semaines après leurs réponses afin de réaliser un test intra-observateur. Seul 7 experts ont répondu au second questionnaire. Le test du kappa de Cohen est réalisé entre les réponses de chaque examinateur.

## **7.2. Statistiques descriptives**

Les calculs (moyennes, écart-types, médianes, quartiles, sommes) et les représentations graphiques sous formes de courbes ont été réalisés avec le logiciel Excel<sup>MD</sup> (Microsoft<sup>TM</sup> Office, Washington, États-Unis). Les boîtes à moustaches (*box-plot*) ont été réalisées avec le logiciel Statistica<sup>MD</sup> software package version 7.1 (Statsoft<sup>®</sup>).

Afin de sélectionner 20 mesures à intervalles réguliers parmi la série de mesures prises de la JED à la surface de l'émail, une formule a été élaborée par Frédéric Santos (Ingénieur d'étude en statistiques, CNRS, PACEA UMR5199). Cette formule requiert l'utilisation du logiciel statistique R<sup>©</sup> (Team 2013).

## 7.3. Statistiques analytiques

### 7.3.1. Test de normalité

L'utilisation de tests paramétriques requiert que les variables suivent une distribution normale. Pour tester cette hypothèse, nous utilisons le test de **Shapiro-Wilk**. Si  $W$  est significatif, l'hypothèse nulle d'une distribution normale est rejetée. Dans ce cas, nous utiliserons les tests non-paramétriques pour étudier les variables concernées. Des tests non-paramétriques ont également été choisis pour celles incluant un effectif inférieur à 30. Les variables testées comprenant un effectif strictement supérieur à 30 concernent la comparaison des DM de l'émail sain et hypominéralisé parmi un groupe de dents actuelles présentant une HMI. Le test de normalité de Shapiro-Wilk donne les résultats suivant pour l'émail sain :  $W = 0,86998$ ,  $P < 0,0001$  et pour l'émail hypominéralisé :  $W = 0,94152$ ,  $P < 0,0001$ . Ces variables ne suivant pas une loi normale. Aucun test paramétrique n'a pu être utilisé car au moins une des deux variables comparées ne suit pas une loi normale.

### 7.3.2. Tests de comparaison de variables

Lorsque les variables étaient indépendantes, nous avons utilisé un **test U de Mann-Whitney** qui correspond au test-t, mais transforme les variables en échelle ordinale. C'est donc une somme de rangs (et non de moyennes) qui sert de base au calcul de  $U$ . Dans le cas où les variables ne suivent pas une loi normale de distribution ou dans le cas de très petits échantillons, le test  $U$  de Mann-Whitney peut être utilisé.

Nous serons principalement intéressés par des comparaisons de mesures réalisées au sein d'une même dent et donc par des comparaisons de mesures 2 à 2. Afin de savoir s'il existe des différences significatives entre des variables appariées telles que « *émail affecté* » et « *émail sain* », le **test de Wilcoxon** (test non-paramétrique) pour échantillon apparié a été utilisé. Le test de Wilcoxon correspond au test-t pour échantillons appariés dans une version non-paramétrique.

### 7.3.3. Logiciels de statistiques

Les tests de Shapiro-Wilk, de Wilcoxon et le  $U$  de Mann-Whitney ont été réalisés à partir du logiciel Statistica<sup>MD</sup> software package version 7.1 (Statsoft®). Les kappas ont été calculés à l'aide du logiciel R<sup>©</sup> (Team 2013).

Objectif	Conditions	Test de comparaison	Variabes
Tester la reproductibilité et la fiabilité des réponses d'un examinateur	-	Kappa de Cohen	diagnostics visuels de HMI diagnostics visuels de colorations taphonomiques
Tester la reproductibilité et la fiabilité des réponses de 3 examinateurs	-	Kappa de Fleiss	diagnostics visuels de HMI diagnostics visuels de colorations taphonomiques
Comparaison de 2 variables indépendantes	-	U de Mann-Whitney (non-paramétrique)	type de coloration (délimitée ou diffuse) et diagnostic (hypominéralisation ou taphonomie)
Comparaison de 2 variables indépendantes	$p > 0,05$ et $n > 30$	Test-t pour échantillons indépendants (paramétrique)	aucune
Comparaison de 2 variables appariées	-	Wilcoxon (non-paramétrique)	mesures au sein de l'émail affecté et de l'émail sain sur une même dent
Comparaison de 2 variables appariées	$p > 0,05$ et $n > 30$	Test-t pour échantillons appariés (paramétrique)	aucune

Tableau 12. Tests statistiques et variables testées dans notre étude. n :effectif.



# Chapitre 5

## Résultats



# 1. Données macroscopiques issues des dents actuelles

## 1.1. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI (population du vivant)

Les réponses des 3 examinateurs sont en Annexe 7. Un accord presque parfait (0,81-0,99) est obtenu pour le diagnostic de HMI entre les 3 examinateurs (Patrick Rouas, David Manton et Elsa Garot) dont le score kappa de Fleiss est de 0,9. Les tests intra-observateur sont réalisés avec 2 semaines d'intervalle et après randomisation. Les résultats montrent un degré d'accord presque parfait car le kappa de Cohen moyen est de  $0,81 \pm 0,13$ .

## 1.2. Fréquence et distributions des différentes opacités de l'émail (blanche, beige et jaune-brune)

Au sein de cet échantillon constitué de 46 dents présentant des défauts permettant le diagnostic de HMI, aucune hypoplasie ni opacité diffuse n'est notée. Parmi ces dents, 36 lésions carieuses de score ICDAS 2 ou plus, 64 opacités délimitées, 23 fractures post-éruptives et 7 restaurations atypiques sont enregistrées (Figure 55). Les opacités délimitées et les lésions carieuses de score ICDAS supérieur à 2 sont les anomalies les plus fréquentes (respectivement 49% et 28% des anomalies enregistrées). Les PMP atteintes par une HMI présentent dans 50% des cas (23/46) une fracture post-éruptive de l'émail et dans 78% des cas (36/46) des lésions carieuses de score ICDAS supérieur à 2.

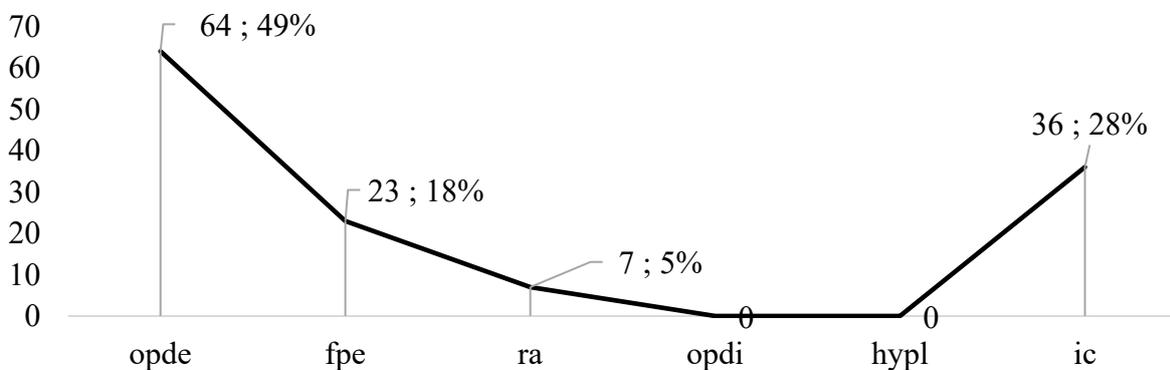


Figure 55. Répartition des effectifs (n ; %) en fonction des anomalies enregistrées au sein de l'échantillon de 46 dents porteuses de défauts de type HMI : opacités délimitées (opde), fractures post-éruptives de l'émail (fpe), restaurations atypiques (ra), opacités diffuses (opdi), hypoplasies (hypi), lésions de score ICDAS supérieur à 2 (ic). n : nombre, % : pourcentage.

Les 46 dents sélectionnées sont réparties de manière homogène entre les 4 héli-arcades (28% sont des 36, 24% sont des 16, 24% sont des 26, 24% sont des 46 ; Figure 56).

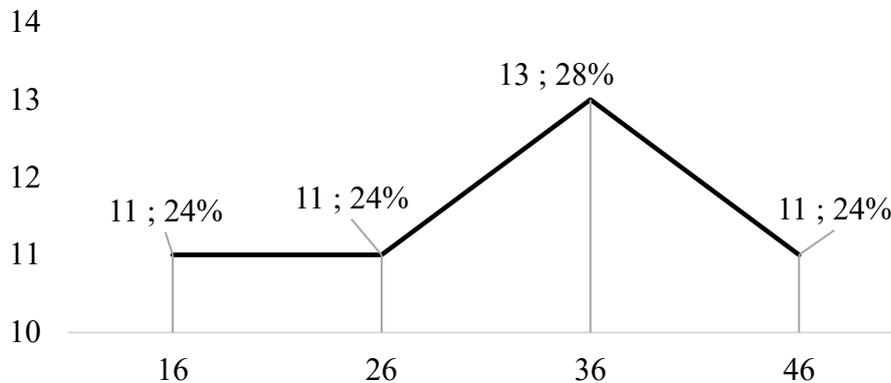


Figure 56. Répartition des effectifs de PMP colorées (n ; %) en fonction du numéro des PMP (16 ; 26 ; 36 ; 46) au sein de l'échantillon de 46 dents présentant une HMI. n : nombre, % : pourcentage.

Parmi les 64 opacités délimitées, la majorité est beige (44%) ou jaune-brune (42% ; Figure 57). Une minorité (11%) d'opacités blanches est enregistrée. Deux opacités sont à la fois beige et jaune-brune.

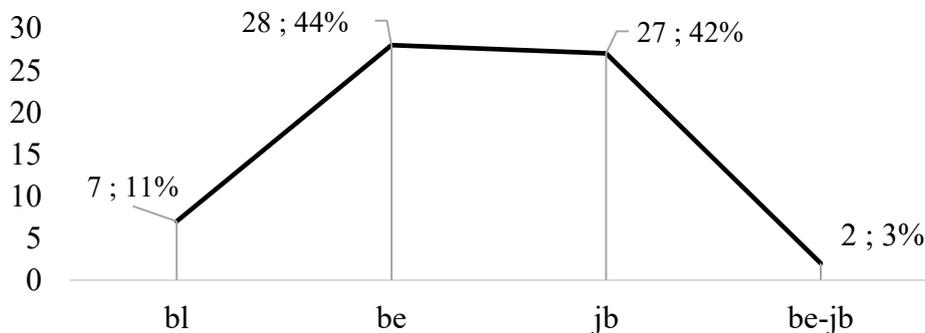
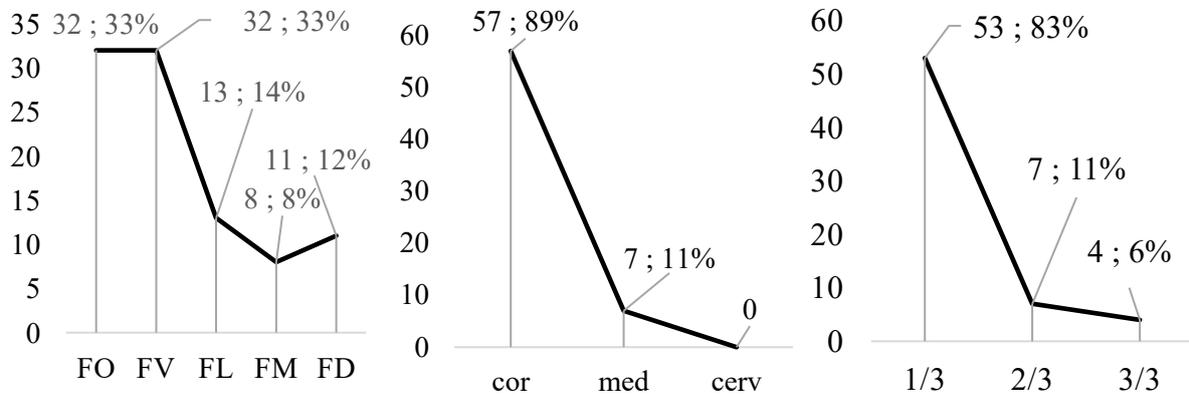


Figure 57. Répartition des effectifs des opacités de l'émail (n ; %) en fonction de leurs couleurs blanche (bl), beige (be) et jaune-brune (jb) au sein de l'échantillon de 46 dents présentant des défauts de type HMI. n : nombre, % : pourcentage.

### 1.3. Localisations des opacités délimitées de l'émail

Dans un premier temps, il faut préciser que des opacités peuvent être localisées à cheval sur plusieurs faces et/ou sur plusieurs tiers. Par contre, une seule étendue est attribuée à une opacité qui est calculée en additionnant les faces atteintes. Un tiers des opacités (33%) est situé sur la face vestibulaire, un deuxième tiers (33%) est situé sur la face occlusale et le dernier tiers se répartie entre les faces distale, mésiale et linguale (Figure 58).

La majorité des opacités (89%) sont situées dans le tiers coronaire, 11% se situent dans le tiers médian et aucune lésion n'atteint le tiers cervical. Enfin, la majorité des lésions (83%) occupent moins du tiers des surfaces atteintes.



**Figure 58.** Répartition des effectifs des opacités de l'émail en fonction de leurs distributions (n ; %), de leurs localisations (n ; %) (cor : coronaire, med : médian, cerv : cervicale) et de leurs étendues (n ; %) sur les surfaces dentaires affectées (1/3, 2/3 et 3/3) au sein des de l'échantillon de 46 dents présentant une HMI. FO : face occlusale, FV : face vestibulaire, FL : face linguale, FM : face mésiale, FD face distale, cor : coronaire, med : médian, cerv : cervicale, n : nombre, % : pourcentage

## 2. Données macroscopiques issues des séries archéologiques

---

Les échantillons archéologiques comprennent 21 séries d'hommes récents : 4 séries françaises provenant de cimetières médiévaux et post-médiévaux et 17 séries anglaises provenant de cimetières romains, médiévaux et post-médiévaux.

### 2.1. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI (population du passé)

Parmi les 76 experts contactés par courriel dont les domaines de recherche comprennent les HMI, 19 ont réalisé notre test inter-observateurs. Les réponses des examinateurs sont en Annexe 8. Le kappa de Fleiss montre un accord très faible (0-0,20) entre les réponses des différents examinateurs (kappa de Fleiss=0,062). Lors de la deuxième série de test, 7 experts ont répondu mais seulement 3 ont laissé leurs adresse mails permettant de faire la comparaison avec la première série de réponses. Le kappa de Cohen réalisé entre les réponses des 3 experts (Annexe 9) montre un degré d'accord moyen faible (kappa de Cohen moyen de 0,40±0,31). Il existe une grande disparité entre les scores kappa des examinateurs (E) variant d'un accord très faible à un accord fort (E1=0,41, E2=0,71 et E3=0,09). Ces observations mettent le doigt sur la difficulté de poser un diagnostic de HMI sur des échantillons archéologiques et sur la nécessité, pour cela, de valider un protocole permettant d'atteindre cet objectif.

### 2.2. Données issues de la série de Sains-en-Gohelle

Grâce au catalogue des éléments présents pour chaque spécimen (Beauval *et al.* 2012), seuls les individus incluant des restes dentaires sont sélectionnés. Ainsi, parmi les 298 individus âgés de 5 à 19 ans, 157 individus sont sélectionnés (Tableau 13). Parmi ces individus, 81 incluent au moins une PMP. Au total, 236 PMP sont observées. Parmi ces 236 PMP, la répartition inter-arcade est homogène (16 ; 26 ; 36 ; 46, Tableau 13). Les données enregistrées comprennent 41 PMP colorées, 14 PMP hypoplasées, 20 PMP cariées et aucune perte *ante-mortem* (PAM).

Ind	Ind avec PMP				PMP observée	PMP colorée	Ind PMP colorée	PMP hypoP	PMP cariée	PAM	
	16	26	36	46							
157	81	63	56	59	58	236	41	25	14	20	0

Tableau 13. Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans la série de Sains-en-Gohelle. PMP : première molaire permanente, hypoP : hypoplasie, PAM : perte *ante-mortem*.

Parmi les 41 PMP colorées appartenant à 25 individus, 47 opacités ont été observées (Tableau 14). Sachant qu'au sein d'une même opacité plusieurs couleurs ont pu être enregistrées, la répartition est la suivante : 3 zones blanches, 13 zones beiges et 34 zones jaune-brunes (Tableau 14). Un total de 43 opacités affectent uniquement l'émail alors que 4 opacités affectent à la fois l'émail et la dentine. Au niveau de la localisation au sein de chaque face, 36 opacités sont situées dans le tiers coronaire, 21 dans le tiers médian et seulement 12 atteignent le tiers cervical. Dans 64% des cas (n=30/47), l'opacité occupe moins d'un tiers des surfaces affectées. Sur les 41 dents colorées, 6 sont atteintes par une lésion carieuse de score ICDAS 2 au minimum et 4 présentent une hypoplasie de l'émail.

Dent	16	26	36	46	Total
n dent colorée	11	10	10	10	41
n opacités	12	11	10	14	47
Blanche	2	0	0	1	3
Beige	3	2	3	5	13
Jaune-brune	7	9	7	11	34
Op. délimitée	6	5	5	10	29
Op. diffuse	6	6	5	4	18
Émail	12	11	8	12	43
Émail/dentine	0	0	2	2	4
Mésiale	3	2	3	4	12
Distale	5	5	3	3	16
Vestibulaire	9	5	6	5	25
Linguale	3	3	3	3	12
Occlusale	5	9	5	6	25
Coronaire	7	6	9	10	36
Médian	5	4	1	9	21
Cervical	2	3	0	5	12
1/3	7	5	7	9	30
2/3	3	1	3	5	13
3/3	1	1	0	0	4
Hypoplasie	0	2	1	1	4
ICDAS 2	1	1	2	2	6
PAM	0	0	0	0	0

Tableau 14. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série Sains-en-Gohelle. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus de 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.3. Données issues de la série de Cognac Saint-Martin

Au sein de la série de Cognac Saint-Martin, 16 individus âgés de 6 à 18 ans incluent au moins une PMP (Tableau 15). Parmi ces derniers, 45 PMP sont examinées. La répartition inter-arcade est homogène (16 ; 26 ; 36 ; 46). Une PMP colorée, 3 PMP cariées (ICDAS>2) et 2 pertes *ante-mortem* sont notées.

Ind	Ind avec PMP	16	26	36	46	PMP observée	PMP colorée	Ind PMP colorée	PMP hypoP	PMP cariée	PAM
16	16	10	11	11	13	45	1	1	0	3	2

Tableau 15. Données relatives aux individus sélectionnés dans la série de Cognac Saint-Martin. PMP : première molaire permanente, hypoP : hypoplasie, PAM : perte *ante-mortem*.

Sur cette PMP colorée (n°46), 2 opacités délimitées sont enregistrées : une beige et une jaune-brune affectant à la fois l'émail et la dentine au niveau du tiers coronaire (Tableau 16). Seule la face mésiale est indemne de coloration. Ces 2 opacités occupent moins du tiers de la surface affectée.

Dent	46
n dent colorée	1
n opacités	2
Blanche	0
Beige	1
Jaune-brune	1
Op. délimitée	2
Op. diffuse	0
Émail	0
Émail/dentine	2
Mésiale	0
Distale	1
Vestibulaire	1
Linguale	2
Occlusale	1
Coronaire	2
Médian	0
Cervical	0
1/3	2
2/3	0
3/3	0
Hypoplasie	0
ICDAS 2	0
PAM	0

Tableau 16. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série de Cognac Saint-Martin. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

## 2.4. Données issues la série de Beauvais

Au sein de la série de Beauvais, 14 individus âgés de 6 à 18 ans incluent au moins une PMP (Tableau 17). Parmi ces derniers, 30 PMP sont examinées. La répartition inter-arcades est inhomogène (par exemple : 13 PMP sont des n°36 et 2 PMP sont des n°16). Ceci s'explique par la disponibilité du matériel archéologique à savoir principalement des mandibules. Six PMP colorées et deux PMP cariées sont notées.

Ind	Ind avec PMP	16	26	36	46	PMP observée	PMP colorée	Ind PMP colorée	PMP hypoP	PMP cariée	PAM
14	14	2	1	13	14	30	6	3	0	2	0

Tableau 17. Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans la série de Beauvais. PMP : première molaire permanente, hypoP : hypoplasie, PAM : perte *ante-mortem*.

Parmi les 6 PMP colorées, 7 opacités (5 délimitées et 2 diffuses) sont observées dont 1 blanche, 1 beige et 5 jaune-brunes (Tableau 18).

Dent	16	36	46	Total
n dent colorée	2	1	3	6
n opacités	2	1	4	7
Blanche	0	0	1	1
Beige	1	0	0	1
Jaune-brune	1	1	3	5
Op. délimitée	2	1	4	7
Op. diffuse	0	0	0	0
Émail	1	1	2	4
Émail/dentine	1	0	2	3
Mésiale	0	0	1	1
Distale	0	1	2	3
Vestibulaire	1	0	2	3
Linguale	0	0	1	1
Occlusale	1	1	3	5
Coronaire	2	1	4	7
Médian	0	0	0	0
Cervical	0	0	0	0
1/3	2	0	2	4
2/3	0	1	2	3
3/3	0	0	0	0
Hypoplasie	0	0	0	0
ICDAS 2	0	0	0	0
PAM	0	0	0	0

Tableau 18. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série de Beauvais. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : 3/3 de la surface est affectée, PAM : Perte *ante-mortem*.

Quatre opacités affectent uniquement l'émail et trois à la fois l'émail et la dentine. Toutes les colorations sont situées dans le tiers coronaire. La moitié de celles-ci occupent moins du tiers de la surface et l'autre moitié occupe du tiers au deux tiers des surfaces affectées.

## 2.5. Synthèse des données issues des séries archéologiques françaises

Au total, dans les séries archéologiques françaises, à savoir Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais, 187 individus âgés de 6 à 19 ans sont sélectionnés (Tableau 19). Parmi les 111 individus qui ont au moins une PMP présente, 311 PMP sont observées. Sur les 311 PMP, 48 (15%) sont colorées, 25 (8%) ont des lésions carieuses (de score ICDAS>2) et 14 (5%) ont des hypoplasies. Seules 2 pertes *ante-mortem* sont observées sur les arcades dentaires.

Ind	Ind avec PMP	16	26	36	46	PMP observée	PMP Colorée	Ind PMP colorée	PMP HypoP	PMP Cariée	PAM
187	111	75	68	83	85	311	48	29	14	25	2

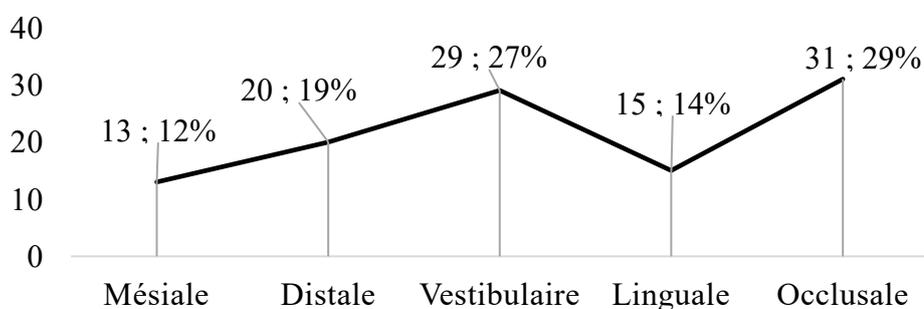
Tableau 19. Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans les séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais). PMP : première molaire permanente, hypoP : hypoplasie, PAM : perte *ante-mortem*.

Parmi les 48 PMP colorées appartenant à 29 individus (Tableau 19), 56 opacités ont été observées dont 38 sont délimitées et 18 diffuses. Sachant qu'au sein d'une même opacité plusieurs couleurs ont pu être enregistrées, la répartition est la suivante : 4 zones blanches, 15 zones beiges et 40 zones jaune-brunes (Figure 59).



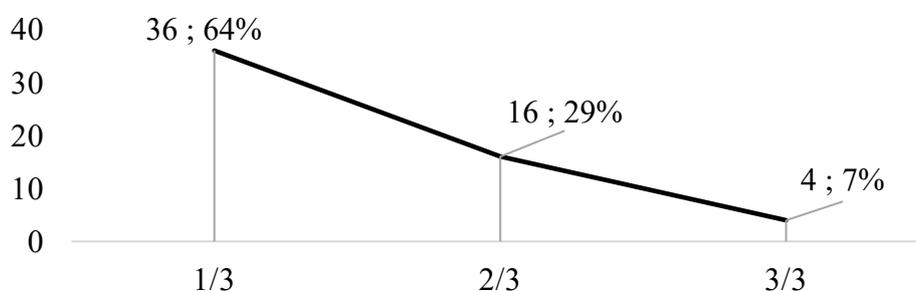
Figure 59. Répartition des effectifs des opacités de l'émail (n ; %) en fonction de leurs couleurs blanche, beige et jaune-brune au sein des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais). n : nombre, % : pourcentage.

Un total de 47 opacités affectent uniquement l'émail alors que 9 opacités affectent à la fois l'émail et la dentine. Au niveau de la localisation au sein de chaque face, 45 opacités sont situées dans le tiers coronaire, 21 dans le tiers médian et seulement 12 atteignent le tiers cervical. Les opacités sont plus fréquemment situées sur les surfaces occlusale et vestibulaire (Figure 60).



**Figure 60.** Répartition des opacités sur les différentes surfaces dentaires (mésiale, distale, vestibulaire, linguale et occlusale) provenant des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais).

Dans 64% des cas, l'opacité occupe moins d'un tiers des surfaces affectées (Figure 61). Sur les 41 dents colorées, 6 sont atteintes par une lésion carieuse de score 2 minimum (ICDAS) et 4 présentent une hypoplasie de l'émail.



**Figure 61.** Étendue des opacités sur les surfaces dentaires atteintes (1/3, 2/3 et 3/3) provenant des séries archéologiques françaises (Sains-en-Gohelle, Cognac Saint-Martin et Beauvais).

## 2.6. Données issues des séries du *Museum* de Londres

Un total de 15 séries ont été examinées au *Museum* de Londres (Tableau 20). Un pool de 179 individus âgés de 6 à 18 ans présente au moins une PMP. Parmi ces individus, 606 PMP ont été examinées. La répartition inter-arcade est homogène (16 ; 26 ; 36 ; 46). La série présentant le plus grand nombre d'individus sélectionnés est celle codée MIN86a. Il s'agit d'un échantillon provenant du cimetière *East Smithfield Black Death*. Le nombre conséquent de squelettes répertoriés s'explique par un épisode fulgurant de peste.

Cependant, peu d'individus présentent leurs PMP car une grande partie des squelettes étaient incomplets.

Série	Ind sélectionnées	Ind avec PMP	16	26	36	46	PMP observées
LSS85	24	22	17	17	19	19	72
NRT85	30	7	6	7	6	6	25
ONE94	26	1	0	1	1	0	2
FAO90	26	20	20	18	18	20	76
MIN86b	54	31	27	24	30	28	109
MPY86	27	19	13	12	17	17	59
MIN86a	114	30	21	23	24	25	93
NLB91	22	14	13	13	12	13	51
ATC97	1	1	1	1	1	0	3
GDV96	4	4	3	4	4	3	14
LTU3	7	7	4	5	6	6	21
GYE92	16	9	6	7	8	7	28
PIC87	6	6	5	6	5	6	22
OCU00	8	6	6	6	5	6	23
REW92	3	2	2	2	2	2	8
<b>Total</b>	<b>368</b>	<b>179</b>	<b>144</b>	<b>146</b>	<b>158</b>	<b>158</b>	<b>606</b>

Tableau 20. Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés parmi les séries du *Museum* de Londres. PMP : première molaire permanente, PAM : perte *ante-mortem*.

Parmi les 606 individus sélectionnés, 44 ont au moins une PMP colorée. Un total de 103 PMP colorées, 69 PMP hypoplasées, 58 PMP cariées et 4 pertes *ante-mortem* sont relevées (Tableau 21).

Série	n PMP	Ind PMP colorée	PMP colorée	PMP hypoplasée	PMP cariée	PAM
LSS85	72	7	17	15	2	0
NRT85	25	0	0	0	0	0
ONE94	2	0	0	0	0	0
FAO90	76	9	31	28	21	1
MIN86b	109	9	21	2	9	1
MPY86	59	1	1	0	0	1
MIN86a	93	12	22	2	2	1
NLB91	51	1	4	8	14	0
ATC97	3	0	0	0	1	0
GDV96	14	1	2	0	0	0
LTU3	21	0	0	4	0	0
GYE92	28	1	1	2	0	0
PIC87	22	1	1	0	1	0
OCU00	23	2	3	4	8	0
REW92	8	0	0	4	0	0
<b>Total</b>	<b>606</b>	<b>44</b>	<b>103</b>	<b>69</b>	<b>58</b>	<b>4</b>

Tableau 21. Données relatives aux premières molaires permanentes appartenant aux individus sélectionnés parmi les séries du *Museum* de Londres. n : effectif ; PMP : première molaire permanente ; PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.1. Série LSS85

Parmi les 17 PMP colorées, 17 opacités (9 délimitées et 8 diffuses) sont observées (Tableau 22). Toutes ces opacités sont de couleur jaune-brune : 15 affectent uniquement l'émail et 2 à la fois l'émail et la dentine. Concernant la localisation, 17 colorations sont situées dans le tiers coronaire, 11 dans le tiers médian et 11 dans le tiers cervical. La moitié occupe plus des deux tiers des surfaces affectées et l'autre moitié occupe moins des deux tiers des surfaces affectées. Des hypoplasies sur 4 des PMP colorées sont recensées.

Dent	16	26	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	5	4	4	4	17
<b>n opacités</b>	5	4	4	4	17
<b>Blanche</b>	0	0	0	0	0
<b>Beige</b>	0	0	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	5	4	4	4	17
<b>Op. délimitée</b>	3	2	3	1	9
<b>Op. diffuse</b>	2	2	1	3	8
<b>Émail</b>	4	4	3	4	15
<b>Émail/dentine</b>	1	0	1	0	2
<b>Mésiale</b>	1	1	1	1	4
<b>Distale</b>	1	1	1	1	4
<b>Vestibulaire</b>	3	4	3	3	13
<b>Linguale</b>	1	1	1	1	4
<b>Occlusale</b>	4	2	3	4	13
<b>Coronaire</b>	5	4	4	4	17
<b>Médian</b>	3	3	3	2	11
<b>Cervical</b>	3	3	3	2	11
<b>1/3</b>	1	1	1	1	4
<b>2/3</b>	1	1	1	1	4
<b>3/3</b>	3	2	2	2	9
<b>Hypoplasie</b>	1	1	1	1	4
<b>ICDAS 2</b>	0	0	0	0	0
<b>PAM</b>	0	0	0	0	0

Tableau 22. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série LSS85. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus de 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.2 Série NRT85

Sur les 25 PMP observées, aucune coloration n'est répertoriée (Tableau 21).

### 2.6.3. Série FAO90

Parmi les 31 PMP colorées, 31 opacités (6 délimitées et 25 diffuses) sont observées (Tableau 23). A l'exception des 3 opacités beiges, toutes les autres sont jaune-brunes. Un total de 25 opacités affectent uniquement l'émail et 6 à la fois l'émail et la dentine. Au niveau de la localisation, 15 colorations sont situées dans le tiers coronaire, 21 dans le tiers médian et 24 dans le tiers cervical. La grande majorité des opacités occupe plus du tiers des surfaces affectées (n=24/31). Des hypoplasies sur 8 des PMP colorées sont recensées.

Dent	16	26	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	9	6	8	8	31
<b>n opacités</b>	9	6	8	8	31
<b>Blanche</b>	0	0	0	0	0
<b>Beige</b>	2	0	1	0	3
<b>Jaune-brune</b>	7	6	7	8	28
<b>Op. délimitée</b>	1	1	2	2	6
<b>Op. diffuse</b>	8	5	6	6	25
<b>Émail</b>	8	5	6	6	25
<b>Émail/dentine</b>	1	1	2	2	6
<b>Mésiale</b>	5	4	5	6	20
<b>Distale</b>	4	3	4	5	16
<b>Vestibulaire</b>	7	6	6	6	25
<b>Linguale</b>	5	4	5	5	19
<b>Occlusale</b>	6	3	6	5	20
<b>Coronaire</b>	5	2	5	3	15
<b>Médian</b>	7	5	5	4	21
<b>Cervical</b>	7	5	6	6	24
<b>1/3</b>	2	0	3	2	7
<b>2/3</b>	6	5	4	5	20
<b>3/3</b>	1	1	1	1	4
<b>Hypoplasie</b>	2	1	2	3	8
<b>ICDAS 2</b>	3	2	3	4	12
<b>PAM</b>	0	0	0	0	0

Tableau 23. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série FAO90. n : nombre ; Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus de 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.4. Série ONE94

Sur les 2 PMP observées, aucune coloration n'est répertoriée (Tableau 21).

### 2.6.5. Série MIN86b

Parmi les 21 PMP colorées, 23 opacités (9 délimitées et 14 diffuses) sont observées dont 2 beiges et 22 jaune-brunes (Tableau 24). Deux affectent à la fois l'émail et la dentine. 20 opacités sont situées dans le tiers coronaire, 13 dans le tiers médian et 6 dans le tiers cervical. La majorité (n=14/23) occupe moins du tiers des surfaces affectées.

Dent	16	26	36	46	Total
n dent colorée	5	8	3	5	21
n opacités	6	8	3	6	23
Blanche	0	0	0	0	0
Beige	1	0	0	1	2
Jaune-brune	6	8	3	5	22
Op. délimitée	3	3	1	2	9
Op. diffuse	3	5	2	4	14
Émail	5	8	3	5	21
Émail/dentine	1	0	0	1	2
Mésiale	2	4	1	2	9
Distale	2	4	1	2	9
Vestibulaire	4	4	2	4	14
Linguale	2	3	1	2	8
Occlusale	5	7	2	5	19
Coronaire	5	7	2	6	20
Médian	3	5	2	3	13
Cervical	1	3	0	2	6
1/3	5	4	3	2	14
2/3	0	3	0	2	5
3/3	1	1	0	2	4
Hypoplasie	1	1	0	1	3
ICDAS 2	0	1	1	0	2
PAM	0	0	0	0	0

Tableau 24. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série MIN86b. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus de 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.6. Série ATC97

Sur les 3 PMP observées, aucune coloration n'a été répertoriée (Tableau 21).

## 2.6.7. Série MPY86

Sur la PMP colorée sélectionnée, une opacité jaune-brune délimitée est observée (Tableau 25). Cette opacité affecte à la fois l'émail et la dentine. Elle se situe dans le tiers coronaire et occupe moins du tiers des surfaces affectées. Une perte *ante-mortem* est également observée sur ce spécimen.

Dent	MPY86_26	GYE92_26	PIC87_16
<b>n dent colorée</b>	1	1	1
<b>n opacités</b>	1	1	2
<b>Blanche</b>	0	0	0
<b>Beige</b>	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	1	1	2
<b>Op. délimitée</b>	1	0	0
<b>Op. diffuse</b>	0	1	2
<b>Émail</b>	0	1	2
<b>Émail/dentine</b>	1	0	0
<b>Mésiale</b>	0	1	0
<b>Distale</b>	0	1	0
<b>Vestibulaire</b>	1	1	1
<b>Linguale</b>	0	1	0
<b>Occlusale</b>	1	1	1
<b>Coronaire</b>	1	1	1
<b>Médian</b>	0	1	1
<b>Cervical</b>	0	1	0
<b>1/3</b>	1	0	2
<b>2/3</b>	0	1	0
<b>3/3</b>	0	0	0
<b>Hypoplasie</b>	0	0	0
<b>ICDAS 2</b>	0	0	0
<b>PAM</b>	1	0	0

Tableau 25. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées des séries MPY86, GYE92 et PIC87. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

## 2.6.8. Série MIN86a

Parmi les 22 PMP colorées, 26 opacités (13 délimitées et 13 diffuses) sont observées dont 5 beiges et 21 jaune-brunes (Tableau 26). Une seule affecte à la fois l'émail et la dentine. Concernant la localisation de ces opacités, 23 sont situées dans le tiers coronaire, 16 dans le tiers médian et 11 dans le tiers cervical. Les colorations occupent moins des deux tiers des surfaces affectées.

Dent	16	26	36	46	Total
n dent colorée	7	3	6	6	22
n opacités	7	3	9	7	26
Blanche	0	0	0	0	0
Beige	1	1	2	1	5
Jaune-brune	6	2	6	7	21
Op. délimitée	4	1	4	4	13
Op. diffuse	4	1	2	6	13
Émail	6	3	9	7	25
Émail/dentine	1	0	0	0	1
Mésiale	3	1	2	4	10
Distale	3	1	1	3	8
Vestibulaire	5	3	5	6	19
Linguale	5	2	5	5	17
Occlusale	7	3	6	5	21
Coronaire	6	2	8	7	23
Médian	4	2	4	6	16
Cervical	4	2	2	3	11
1/3	4	2	6	4	16
2/3	3	1	3	3	10
3/3	0	0	0	0	0
Hypoplasie	0	0	0	0	0
ICDAS 2	1	0	0	0	1
PAM	0	0	0	0	0

Tableau 26. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série MIN86a. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.9. Série NLB91

Parmi les 4 PMP colorées, 4 opacités délimitées de couleur jaune-brune ont été enregistrées (Tableau 27). Les opacités affectent à la fois l'émail et la dentine et sont situées dans le tiers coronaire. Les 4 PMP présentent également des hypoplasies et des caries de score ICDAS 2 au minimum.

Dent	16	26	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	1	1	1	1	4
<b>n opacités</b>	1	1	1	1	4
<b>Blanche</b>	0	0	0	0	0
<b>Beige</b>	0	0	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	1	1	1	1	4
<b>Op. délimitée</b>	1	1	1	1	4
<b>Op. diffuse</b>	0	0	0	0	0
<b>Émail</b>	0	0	0	0	0
<b>Émail/dentine</b>	1	1	1	1	4
<b>Mésiale</b>	1	1	0	0	2
<b>Distale</b>	1	1	0	0	2
<b>Vestibulaire</b>	1	1	1	1	4
<b>Linguale</b>	1	1	0	0	2
<b>Occlusale</b>	1	1	1	1	4
<b>Coronaire</b>	1	1	1	1	4
<b>Médian</b>	0	0	0	0	0
<b>Cervical</b>	0	0	0	0	0
<b>1/3</b>	0	0	1	0	1
<b>2/3</b>	1	1	0	1	3
<b>3/3</b>	0	0	0	0	0
<b>Hypoplasie</b>	1	1	1	1	4
<b>ICDAS 2</b>	1	1	1	1	4
<b>PAM</b>	0	0	0	0	0

Tableau 27. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série NLB91. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.10. Série PIC87

Sur la PMP colorée, 2 opacités jaune-brunes diffuses ont été observées (Tableau 25). Ces opacités affectent uniquement l'émail. Elles se situent dans le tiers coronaire et le tiers médian de la dent et occupent moins du tiers des surfaces affectées.

### 2.6.11. Série GDV96

Parmi les 2 PMP colorées, 2 opacités diffuses jaune-brunes ont été enregistrées (Tableau 28). Les opacités affectent uniquement l'émail et sont situées dans le tiers coronaire.

Dent	26	46	Total
<b>n dent colorée</b>	1	1	2
<b>n opacités</b>	1	1	2
<b>Blanche</b>	0	0	0
<b>Beige</b>	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	1	1	2
<b>Op. délimitée</b>	0	0	0
<b>Op. diffuse</b>	1	1	2
<b>Émail</b>	1	1	2
<b>Émail/dentine</b>	0	0	0
<b>Mésiale</b>	0	0	0
<b>Distale</b>	0	0	0
<b>Vestibulaire</b>	0	1	1
<b>Linguale</b>	1	0	1
<b>Occlusale</b>	1	1	2
<b>Coronaire</b>	1	1	2
<b>Médian</b>	0	0	0
<b>Cervical</b>	0	0	0
<b>1/3</b>	1	1	2
<b>2/3</b>	0	0	0
<b>3/3</b>	0	0	0
<b>Hypoplasie</b>	0	0	0
<b>ICDAS 2</b>	0	0	0
<b>PAM</b>	0	0	0

Tableau 28. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série GDV96. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.12. Série LTU3

Sur les 21 PMP observées, aucune coloration n'a été répertoriée (Tableau 21).

### 2.6.13. Série GYE92

Sur la PMP colorée, une opacité jaune-brune diffuse a été observée (Tableau 25). Cette opacité affecte uniquement l'émail. Elle se situe dans le tiers coronaire et le tiers médian de la dent. Elle occupe plus du tiers des surfaces affectées.

### 2.6.14. Série OCU00

Parmi les 3 PMP colorées, 3 opacités jaune-brunes ont été enregistrées (Tableau 29). Une opacité est délimitée tandis que les 2 autres sont diffuses. Les opacités affectent uniquement l'émail et sont situées dans les tiers coronaire et médian. Les 3 dents présentent également des hypoplasies et 2 lésions carieuses de scores ICDAS 2 ou plus.

Dent	16	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	1	1	1	3
<b>n opacités</b>	1	1	1	3
<b>Blanche</b>	0	0	0	0
<b>Beige</b>	0	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	1	1	1	3
<b>Op. délimitée</b>	1	0	0	1
<b>Op. diffuse</b>	0	1	1	2
<b>Émail</b>	1	1	1	3
<b>Émail/dentine</b>	0	0	0	0
<b>Mésiale</b>	0	0	0	0
<b>Distale</b>	0	0	0	0
<b>Vestibulaire</b>	0	0	0	0
<b>Linguale</b>	0	1	1	2
<b>Occlusale</b>	1	1	1	3
<b>Coronaire</b>	1	1	1	3
<b>Médian</b>	0	1	1	2
<b>Cervical</b>	0	0	0	0
<b>1/3</b>	1	0	0	1
<b>2/3</b>	0	1	1	2
<b>3/3</b>	0	0	0	0
<b>Hypoplasie</b>	1	1	1	3
<b>ICDAS 2</b>	0	1	1	2
<b>PAM</b>	0	0	0	0

Tableau 29. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de la série OCU00. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

### 2.6.15. Série REW92

Sur les 8 PMP observées, aucune coloration n'a été répertoriée (Tableau 21).

## 2.7. Données issues de l'échantillon « taphonomique » de Jau-Dignac

L'échantillon issu de Jau-Dignac a pour but de recueillir des colorations d'origine taphonomique. Deux individus présentant des colorations à la fois sur la mandibule et sur plusieurs dents adjacentes ont été sélectionnés : JAU\_152 et JAU\_2001.

### ➤ JAU\_152

Les opacités présentes sur les 5 dents sélectionnées sont toutes diffuses et de couleur jaune-brune (Tableau 30).

Dent	16	34	35	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	1	1	1	1	1	5
<b>n opacités</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Blanche</b>	1	0	0	0	0	1
<b>Beige</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Jaune-brune</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Op. délimitée</b>	0	0	0	0	0	0
<b>Op. diffuse</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Émail</b>	1	1	1	0	1	4
<b>Émail/dentine</b>	0	0	0	1	0	1
<b>Mésiale</b>	1	0	0	0	0	1
<b>Distale</b>	1	0	0	0	0	1
<b>Vestibulaire</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Linguale</b>	1	0	0	0	0	1
<b>Occlusale</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Coronaire</b>	1	1	1	1	1	5
<b>Médian</b>	1	1	1	0	0	3
<b>Cervical</b>	1	0	0	0	0	1
<b>1/3</b>	0	0	1	1	1	3
<b>2/3</b>	0	1	0	0	0	1
<b>3/3</b>	1	0	0	0	0	1
<b>Hypoplasie</b>	0	1	1	1	0	3
<b>ICDAS 2</b>	0	1	1	1	0	3
<b>PAM</b>	0	1	1	1	0	3

Tableau 30. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de l'individu 152 issu de la série de Jau-Dignac-et-Loirac. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

## ➤ JAU\_2001

Les opacités présentes sur les 4 dents sélectionnées sont toutes délimitées (Tableau 31). Les trois couleurs sont enregistrées au sein de ces opacités. Nous recensons une opacité blanche, une opacité beige/jaune-brune et 2 opacités jaune-brunes.

Dent	27	28	48	47	Total
<b>n dent colorée</b>	1	1	1	1	4
<b>n opacités</b>	1	1	1	1	4
<b>Blanche</b>	0	0	1	0	1
<b>Beige</b>	0	1	0	0	1
<b>Jaune-brune</b>	1	1	0	1	3
<b>Op. délimitée</b>	1	1	1	1	4
<b>Op. diffuse</b>	0	0	0	0	0
<b>Émail</b>	1	1	1	1	4
<b>Émail/dentine</b>	0	0	0	0	0
<b>Mésiale</b>	1	0	0	0	1
<b>Distale</b>	1	0	0	0	1
<b>Vestibulaire</b>	1	1	0	0	2
<b>Linguale</b>	1	1	0	0	2
<b>Occlusale</b>	1	1	1	1	4
<b>Coronaire</b>	1	1	1	1	4
<b>Médian</b>	0	1	0	0	1
<b>Cervical</b>	0	1	0	0	1
<b>1/3</b>	0	1	1	1	3
<b>2/3</b>	1	0	0	0	1
<b>3/3</b>	0	0	0	0	0
<b>Hypoplasie</b>	0	0	0	0	0
<b>ICDAS 2</b>	0	0	0	0	0
<b>PAM</b>	0	0	0	0	0

Tableau 31. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées de l'individu 2001 issu de la série de Jau-Dignac-et-Loirac. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

## 2.8. Synthèse des données des séries archéologiques

Parmi les 555 individus sélectionnés, 290 ont au moins une PMP présente et 73 individus présentent au moins une PMP colorée (Tableau 32). Un total de 917 PMP ont été observées.

Provenance	Ind	Ind avec PMP	16	26	36	46	PMP observée	PMP colorée	Ind PMP colorée	PMP hypoplasiée	PMP cariée	PAM
France	187	111	75	68	83	85	311	48	29	14	25	2
Angleterre	368	179	144	146	158	158	606	103	44	69	58	4
<b>Total</b>	<b>555</b>	<b>290</b>	<b>219</b>	<b>214</b>	<b>241</b>	<b>243</b>	<b>917</b>	<b>151</b>	<b>73</b>	<b>83</b>	<b>83</b>	<b>6</b>

Tableau 32. Données relatives aux individus (Ind) sélectionnés dans toutes les séries archéologiques. PMP : première molaire permanente, PAM : perte *ante-mortem*.

Au sein des 917 PMP observées, 151 (16% des PMP) présentent des colorations, 83 (9% des PMP) sont atteintes d'hypoplasies, 83 (9% des PMP) ont des lésions carieuses de score ICDAS 2 ou plus (Figure 62). L'anomalie la plus fréquente est la coloration de ces PMP (47%). Les pertes *ante-mortem* de PMP ne représentent que 2% des anomalies enregistrées.

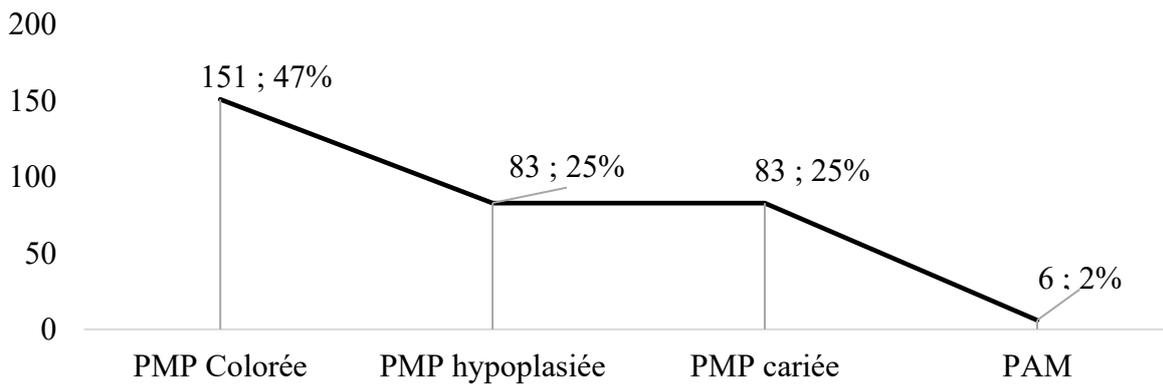


Figure 62. Distribution des PMP colorées, hypoplasées, cariées et des pertes *ante-mortem*. PMP : première molaire permanente, PAM : perte *ante-mortem*.

Les colorations sont réparties de manière relativement homogène entre les arcades dentaires (27%, 26%, 24% et 23% ; Figure 63).

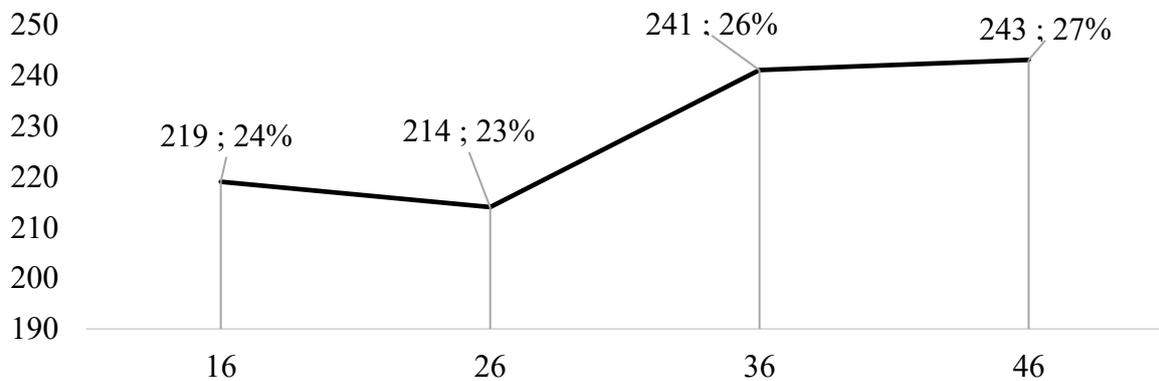


Figure 63. Distribution des PMP colorées en fonction de l'arcade (16 ; 26 ; 36 ; 46).

Parmi les 151 PMP colorées, 166 opacités ont été notées (Tableau 33).

Dent	16	26	36	46	Total
<b>n dent colorée</b>	42	35	34	40	151
<b>n opacités</b>	45	36	37	48	166
<b>Blanche</b>	2	0	0	2	4
<b>Beige</b>	8	3	6	8	25
<b>Jaune-brune</b>	36	33	30	42	141
<b>Op. délimitée</b>	21	14	17	26	78
<b>Op. diffuse</b>	25	21	17	25	88
<b>Émail</b>	39	33	31	38	141
<b>Émail/dentine</b>	6	3	6	10	25
<b>Mésiale</b>	15	14	12	18	59
<b>Distale</b>	16	16	11	17	60
<b>Vestibulaire</b>	31	25	23	29	108
<b>Linguale</b>	17	16	16	20	69
<b>Occlusale</b>	31	28	25	32	116
<b>Coronaire</b>	33	25	31	39	128
<b>Médian</b>	23	20	16	25	84
<b>Cervical</b>	17	17	11	18	63
<b>1/3</b>	24	14	21	23	82
<b>2/3</b>	14	13	13	20	60
<b>3/3</b>	6	5	3	5	19
<b>Hypoplasie</b>	6	6	6	8	26
<b>ICDAS 2</b>	6	5	8	8	27
<b>PAM</b>	0	1	0	0	1

Tableau 33. Données relatives aux premières molaires permanentes colorées des séries archéologiques. n : nombre, Op : opacité, 1/3 : jusqu'à 1/3 de la surface est affectée, 2/3 : 2/3 de la surface est affectée, 3/3 : plus des 2/3 de la surface est affectée, PAM : perte *ante-mortem*.

Parmi ces 166 opacités, la majorité sont jaune-brunes (83% ; Figure 64). On retrouve 15% d'opacités beiges et une minorité (2%) de blanches. Quatre opacités sont de deux couleurs.

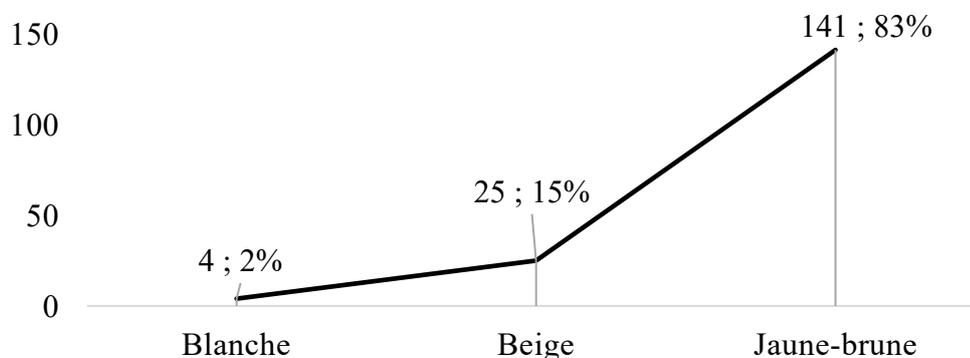


Figure 64. Répartition des opacités en fonction de leurs couleurs (blanche, beige et jaune-brune) présentes sur les premières molaires permanentes colorées des séries archéologiques.

Autant d'opacités diffuses (53%) que délimitées (47%) ont été enregistrées (Figure 65).

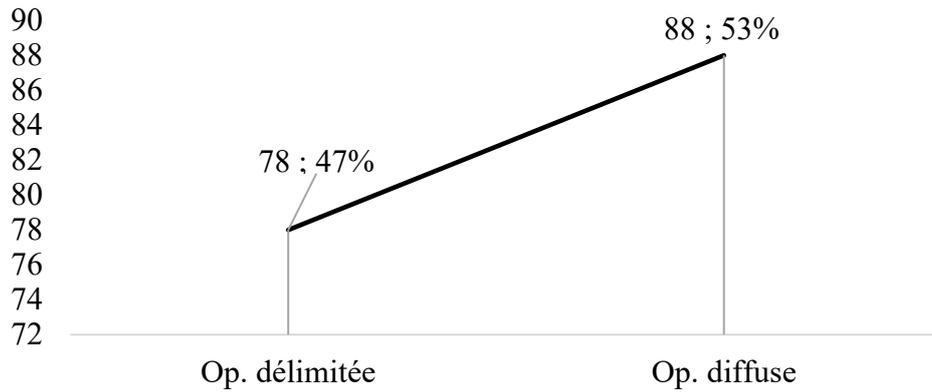


Figure 65. Distribution des opacités (Op.) délimitées et diffuses présentes sur les premières molaires colorées des séries archéologiques.

Une majorité des opacités (85%) affectent uniquement l'émail (Figure 66).

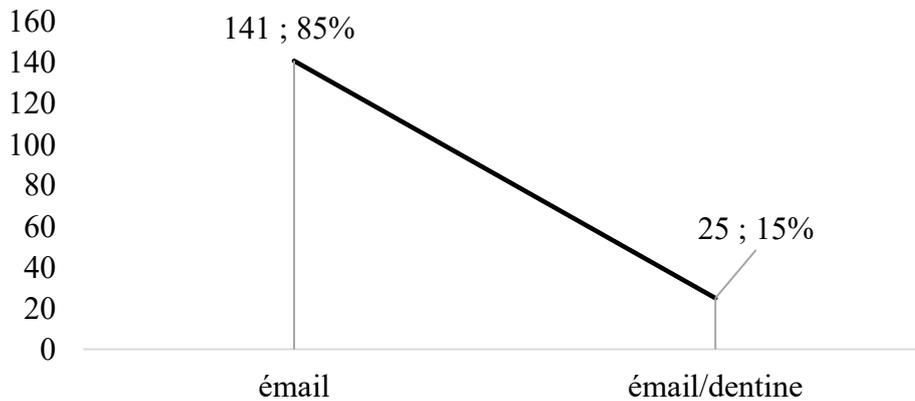


Figure 66. Distribution des opacités en fonction de leur profondeur (émail ou émail/dentine) provenant des dents des séries archéologiques.

Les surfaces les plus fréquemment atteintes sont les surfaces occlusales (28%) et vestibulaires (26% ; Figure 67).

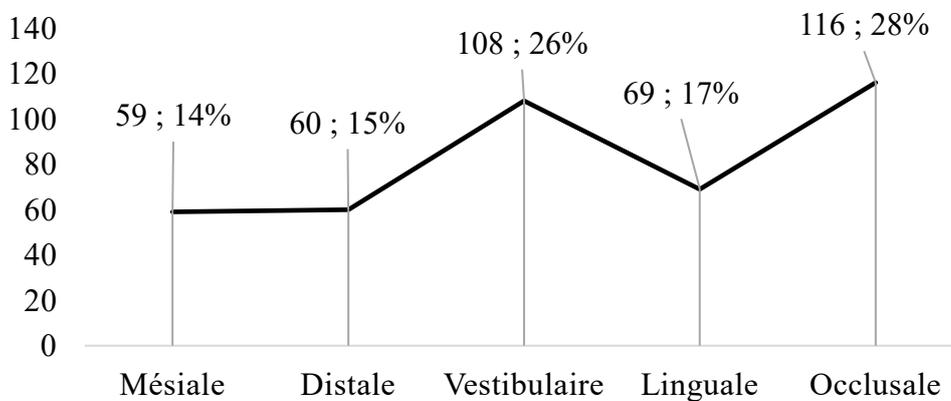


Figure 67. Répartition des opacités sur les différentes surfaces dentaires (mésiale, distale, vestibulaire, linguale et occlusale) provenant des séries archéologiques.

Le tiers coronaire est le plus fréquemment atteint (46%). Le tiers cervical l'est moins. (23% ; Figure 68).

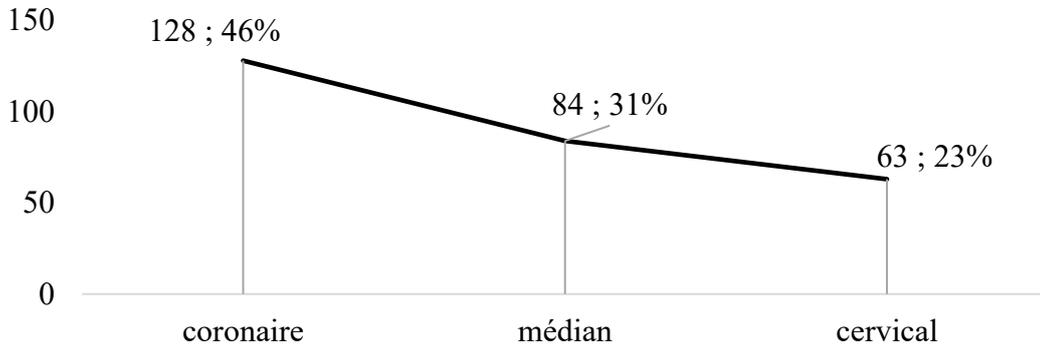


Figure 68. Répartition des opacités en fonction de leur localisation sur une surface dentaire (coronaire, médiane et cervicale) provenant des dents des séries archéologiques.

Dans la moitié des cas, seul le tiers des surfaces affectées est atteint (51% ; Figure 69).

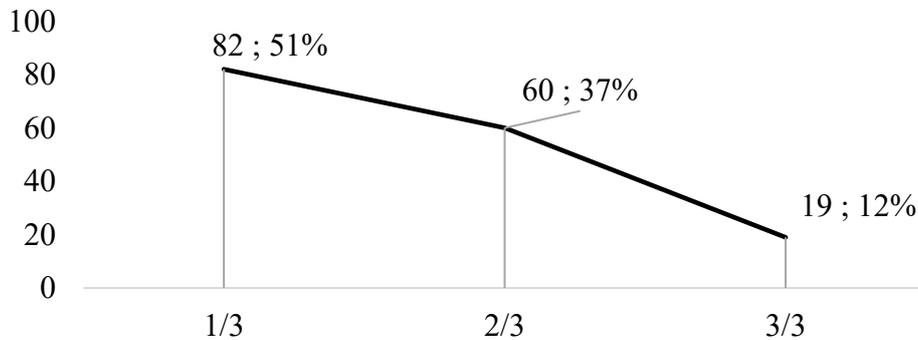


Figure 69. Étendue des opacités sur les surfaces dentaires atteintes (1/3, 2/3 et 3/3) provenant des séries archéologiques.

Parmi les individus présentant des PMP colorées, les anomalies suivantes sur leurs PMP ont été enregistrées : opacités, hypoplasies, lésions carieuses de score ICDAS supérieur à 2. Nous notons que 75% de ces anomalies sont des opacités, 12% sont des hypoplasies, 12% sont des lésions carieuses ICDAS 2 ou plus, et une seule perte *ante-mortem* a été répertoriée soit 1% des anomalies (Figure 70).

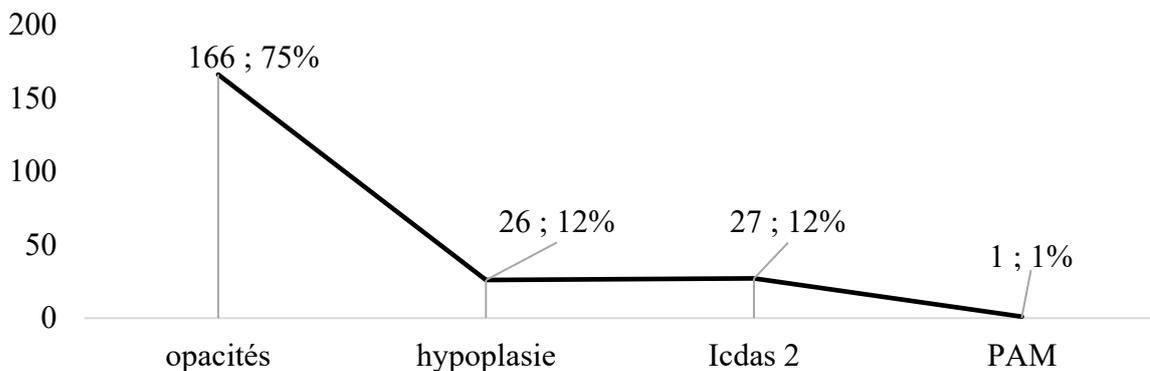


Figure 70. Distribution des différentes anomalies enregistrées : opacités, hypoplasies, lésions carieuses (score ICDAS 2 au minimum) et perte *ante-mortem* (PAM) provenant des PMP des séries archéologiques.

### 3. Réexamen de la série de Broadgate

Comme nous l’avons vu précédemment (*confer* chapitre 2 §2.7.), les premiers cas de HMI publiés ont été décrit dans la collection archéologique de *Broadgate* LSS85 (*Museum* de Londres) (Ogden *et al.* 2008). Dans le rapport de fouille de Sains-en-Gohelle, des doutes avaient été avancés concernant cette publication et les conclusions qui en découlaient (Rouas 2012). D’une part, les chiffres de prévalence de cette collection rapportés dans l’article sont bien plus élevés que ceux retrouvés dans les populations actuelles (respectivement 93,2% et 15%), et d’autre part, un an auparavant, ces mêmes auteurs avaient attribué ces cas à des hypoplasies (Ogden *et al.* 2007). Ceci nous a amené à nous rendre au *Museum* de Londres pour examiner cette collection afin de confirmer ou non la présence de cas de HMI et de tester la fiabilité du diagnostic visuel de l’HMI dans des populations archéologiques.

Les spécimens «jeunes adultes» sélectionnés pour cette étude sont issus d’une collection post-médiévale du *Museum* de Londres (*Broadgate* LSS85) précédemment étudiée par Ogden *et al.*. Cette collection comprend 150 spécimens préalablement enregistrés sur la base de données du *Museum* : la « *Wellcome Osteological Research Database* » (Center for Human Bioarchaeology 2008). Cet effectif est divisé en 2 sous-groupes en fonction de l’âge des individus : les enfants (0-17 ans) comprenant 73 individus et les adultes (18 ans et plus) comprenant 77 individus (Tableau 34). Seuls les individus entre 1 et 25 ans sont sélectionnés pour un examen soit un total de 65 individus (47 enfants et 18 jeunes adultes). Parmi les enfants (n=47), 22 individus ont au moins une PMP ayant fait son éruption. Parmi ce groupe, un total de 72 PMP sont observées. Parmi le groupe de jeunes adultes (n=18), 6 individus présentent au moins une PMP éruptée. Un total de 10 PMP sont observées. Parmi ces 6 jeunes adultes, 5 femmes et un homme sont dénombrés (Center for Human Bioarchaeology 2008).

	Classe sélectionnée	Ind examiné	PMP observée	Ind avec PMP	Homme	Femme	Non sexé
Enfants	1-5 ans	16	16	5	-	-	5
	6-17 ans	27	52	16	-	-	16
	Non classifié	4	4	1	-	-	1
	<b>Total</b>	<b>47</b>	<b>72</b>	<b>22</b>	-	-	<b>22</b>
Jeunes adultes	18-25 ans	18	10	6	1	5	-
	<b>Total</b>	<b>65</b>	<b>82</b>	<b>28</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>22</b>

Tableau 34. Caractéristiques de l’échantillon sélectionné issu de la série de *Broadgate* (LSS85). Ind : individu, PMP : première molaire permanente, Ind avec PMP : au moins une PMP est éruptée.

Parmi les 82 PMP observées, 26% (n=21) présentent des colorations, 3% (n=4) sont atteintes de lésions carieuses (score ICDAS>2) et 8 pertes *ante-mortem* ont été enregistrées (Tableau 35). Toutes les pertes *ante-mortem* ont été observées sur de jeunes adultes.

Critères	Hypoplasiée nPMP (%)	Colorée nPMP (%)	Cariée nPMP (%)	Saine nPMP (%)	PAM nPMP
Enfants	15/72 (21%)	19/72 (26%)	2/72 (3%)	42/72 (58%)	0
Jeunes adultes	3/10 (30%)	2/10 (20%)	1/10 (10%)	4/10 (40%)	8
Total	18/82 (22%)	21/82 (26%)	3/82 (4%)	46/82 (57%)	8

**Tableau 35. Nombre de premières molaires permanentes enregistrées en fonction des critères suivants : hypoplasiée, colorée, cariée, saine, perte *ante-mortem* dans la série de Broadgate (LSS85). PMP : première molaire permanente, PAM : perte *ante-mortem*, n : nombre, ind : individu.**

Les 21 PMP présentant des colorations appartiennent à 9 individus dont 8 enfants et un jeune adulte (Tableau 36). Parmi ces 21 PMP, 12 colorations sont diffuses et 9 sont des opacités délimitées. Le test du kappa de Fleiss (test inter-observateurs) a été réalisé entre les réponses des 3 examinateurs (PR, DM et EG) pour chacun des 9 individus montrant des colorations (Tableau 36). Les réponses des examinateurs sont en Annexe 10. À la question « *Est-ce caractéristique des HMI ?* », les examinateurs sont parfaitement d'accord pour rejeter le diagnostic de HMI (kappa=1) pour 3 individus (LSS85\_648, LSS85\_1497 et LSS85\_1371). À la question « *Est-ce caractéristique d'une coloration taphonomique ?* », un accord parfait (kappa=1) confirme également le diagnostic de coloration taphonomique sur deux de ces spécimens (LSS85\_648 et LSS85\_1497). Concernant les autres individus, aucun accord n'a pu être mis en évidence entre les 3 examinateurs (kappa<0).

Sépulture	groupe	PMP observée	Coloration n (PMP)	Diffuse n (PMP)	Délimitée n (PMP)	Kappa HMI?	Kappa TPH?
1338	Enfant	16,26,36,46	2	/	2	<0	<0
648	Enfant	16,26,36,46	4	4	/	1 (-)	1(+)
852	Enfant	16,26,46	1	/	1	<0	<0
1497	Enfant	16,26,36,46	4	4	/	1 (-)	1 (+)
684	Enfant	16,26,36,46	4	/	4	<0	<0
1322	Adulte	16,26,36,46	2	2	/	<0	<0
1487	Enfant	16,26,36,46	1	/	1	<0	<0
1197	Enfant	16,36	2	1	1	<0	<0
1371	Enfant	26,46	1	1	/	1 (-)	<0
Total	/	31	21	12	9	0,3	0,05

**Tableau 36. Caractéristiques des colorations (diffuse ou délimitée) et tests du kappa de Fleiss (test inter-observateurs) réalisés entre les 3 examinateurs pour chaque individu. n : nombre, PMP : première molaire permanente, TPH : coloration taphonomique, <0 : fort désaccord, 1 : accord parfait, (-) : réponse négative, (+) : réponse positive.**

Les résultats du test intra-examineurs sont fournis dans le Tableau 37. Le score du troisième examinateur (E3) est plus élevé que ceux des autres (allant de 0,47 à 0,78). La moyenne du kappa de Cohen indique un faible accord pour chaque diagnostic et un accord modéré quand les deux diagnostics sont pris en compte.

Kappa	E1	E2	E3	m ± σ	Interprétation de l'accord (m)
HMI	0,265	0,32	0,47	0,35 ± 0,11	faible (0,21-0,40)
TPH	-0,18	0,04	0,79	0,22 ± 0,51	faible (0,21-0,40)
HMI + TPH	0,27	0,22	0,78	0,42 ± 0,31	modéré (0,41-0,60)

Tableau 37. Tests intra-observateur (kappa de Cohen) pour chaque diagnostic de coloration HMI et TPH. E : examinateur, m : moyenne, σ : écart-type, TPH : coloration taphonomique.

Le diagnostic positif de coloration taphonomique est significativement associé au type de coloration, à savoir diffuse (p=0,045 ; Tableau 38). Le diagnostic de HMI n'a pas pu être relié aux opacités délimitées (p=0,055).

Variabes	U	Z	p-valeur
Diffuse et TPH	0	-2,00594	<b>0,045*</b>
Diffuse et HMI	1,5	-1,90516	0,057
Délimitée et HMI	1,5	1,923048	0,055
Délimitée et TPH	2	1,401770	0,161

Tableau 38. Test U de Mann-Whitney réalisé entre le type de coloration (diffuse ou délimitée) et le diagnostic proposé (HMI ou TPH). Effectif n=9. TPH : coloration taphonomique, \* p<0,05.

Après exclusion des 3 individus (LSS85\_648, LSS85\_1497 et LSS85\_1371) identifiés comme n'étant pas atteint de HMI (kappa=1), la distribution et les caractéristiques des colorations présentes sur les 6 individus (soit 12 PMP) restants sont représentés sur la Figure 71. Aucune coloration blanche ou beige n'a été enregistrée. La majorité des colorations sont réparties sur les surfaces occlusales et vestibulaires. Toutes les colorations sont situées dans le tiers occlusal.

Dans cette étude, en tenant compte uniquement du groupe des enfants (n=47) avec au moins une PMP présente (n=22), 6 individus avaient des colorations mais sans aucune certitude que ce soient des HMI. Parmi ces 6 individus, 5 présentent des colorations délimitées. Même si nous attribuons ces colorations à des HMI, la prévalence demeure beaucoup plus faible que celle précédemment déterminée par Ogden *et al.* (27,3% versus 93,2%).

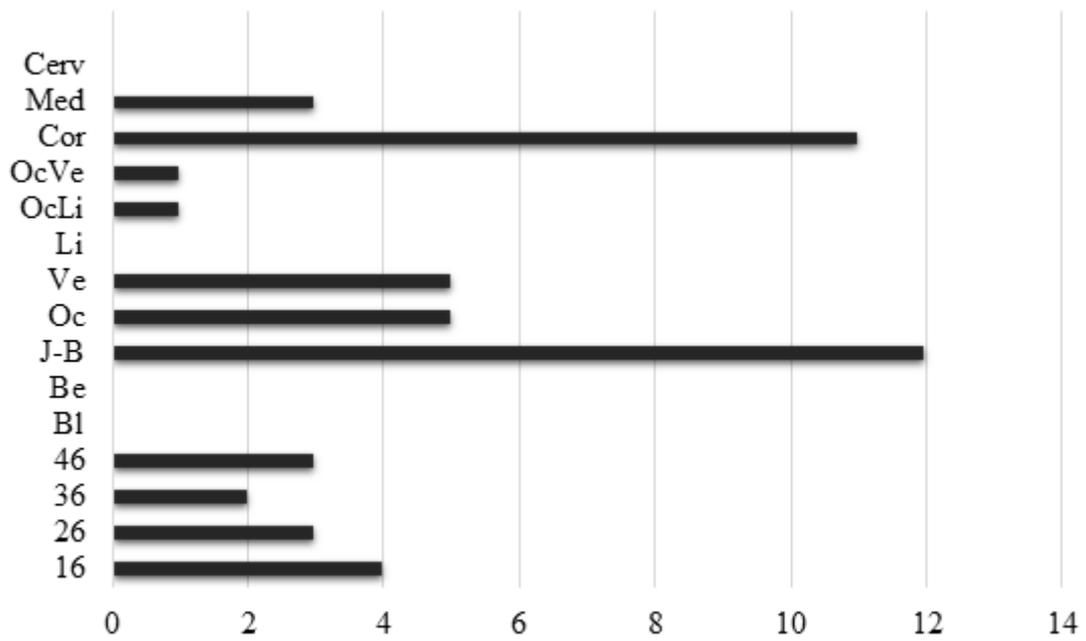


Figure 71. Distributions et caractéristiques des colorations parmi les 6 individus sélectionnés par le kappa de Fleiss (LSS85 1338, 852, 684, 1322, 1487 and 1197). Cerv : tiers cervical, Me : tiers médian, Cor : tiers coronaire, OcVe : occluso-vestibulaire, OcLi : occluso-lingual, Li : lingual, Ve : vestibulaire, Oc : occlusal, J-B : jaune-brune, Be : beige, Bl : blanche.

**Nous avons vu que le diagnostic visuel de l’HMI dans des populations du vivant est fiable et reproductible. *A contrario*, dans les populations archéologiques, ce diagnostic est subjectif puisqu’il repose sur des critères validés à partir de données issues de populations du vivant qui ne sont donc pas concernées par des phénomènes *post-mortem* tels que les colorations taphonomiques. Afin de savoir si la distinction entre ces deux phénomènes est possible, nous avons voulu caractériser d’une part l’émail hypominéralisé de dents issues du vivant et d’autre part celui coloré par taphonomie. Nous avons utilisé des méthodes d’analyse non-destructives telles que la microtomographie, la spectroscopie Raman et la fluorescence X afin que ces méthodes soient ensuite applicables à des spécimens archéologiques. Les dents actuelles ont également été analysées en MEB-EDX (méthode pouvant être destructive).**

## 4. Caractérisation de l'émail hypominéralisé (HMI)

Dans un premier temps, nous avons analysé 11 dents actuelles présentant une HMI en MEB. Sans métallisation ou dépôt de carbone, les images obtenues ne nous permettaient pas de mettre en évidence une structure et un agencement particuliers des prismes de l'émail hypominéralisé. Ne pouvant réaliser cette métallisation sur les dents archéologiques sans les détériorer, nous n'avons pas souhaité poursuivre ces investigations sur nos dents actuelles. Pour pouvoir créer une passerelle entre dents actuelles et archéologiques, nous devons suivre un protocole identique.

Nous avons ensuite analysé notre échantillon en MEB-EDX afin d'obtenir des données sur les concentrations relatives en éléments majeurs tels que le Ca et le P et en éléments mineurs tels que le F, Na, Mg, Al, Si, S, Cl, Sc et Zn. Parmi les 11 dents sélectionnées présentant une HMI, 27 zones hypominéralisées et 7 zones saines ont été analysées.

### 4.1. Données issues du MEB-EDX

Nous pouvons observer que les médianes des concentrations relatives en Ca et P et les ratios de Ca/P de l'émail hypominéralisé et de l'émail sain sont éloignées (Figure 72 et Figure 73). L'émail hypominéralisé contient moins de Ca, plus de P et donc un ratio Ca/P moins élevé par rapport à l'émail sain. Les valeurs présentent une distribution plus étendue dans l'émail sain que dans l'émail hypominéralisé.

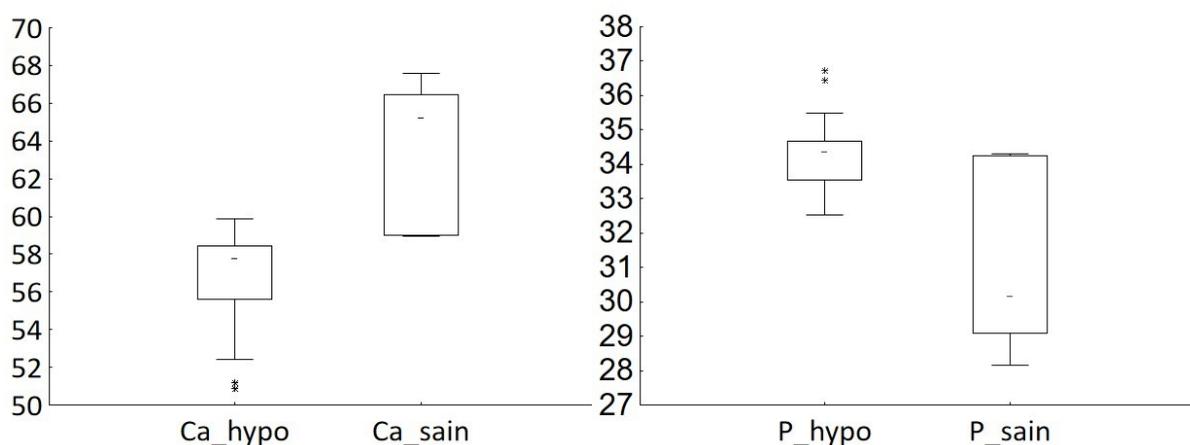


Figure 72. Diagrammes de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations relatives (en % massique) en Ca et en P des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

L'intervalle comprenant les valeurs des ratios Ca/P de l'émail hypominéralisé [1,43-1,81] n'est pas compris dans l'intervalle des valeurs de l'émail auquel nous faisons référence dans la partie chapitre 2 §1.2.3. à savoir [1,92-2,17]. *A contrario*, les valeurs du ratio Ca/P de l'émail sain [1,72-2,40] se rapproche de cet intervalle de référence.

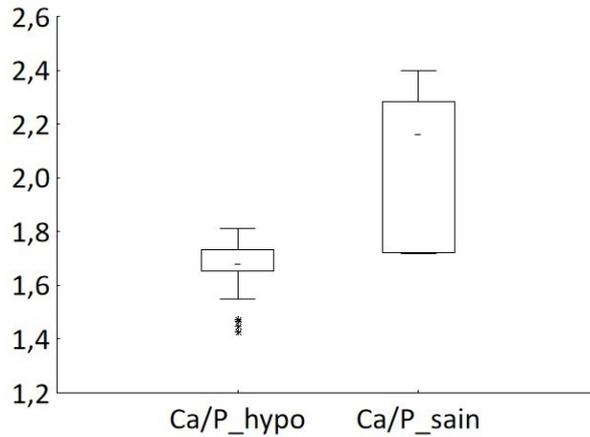


Figure 73. Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des ratios de Ca/P des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

Les médianes des concentrations relatives en F dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain sont éloignées (Figure 74). L'émail hypominéralisé donne des valeurs plus élevées en F que l'émail sain. Ces concentrations en F présentent des distributions d'étendues comparables dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain. Deux valeurs extrêmes supérieures se dégagent nettement de l'ensemble des données de l'émail hypominéralisé. Elles pourraient être expliquées par la thérapeutique entreprise lors d'une hypominéralisation qui consiste à appliquer un vernis hautement concentré en fluor sur la surface des dents afin de reminéraliser cet émail. Ne connaissant pas l'historique thérapeutique des dents que nous avons prélevées, nous ne pouvons qu'émettre des suppositions.

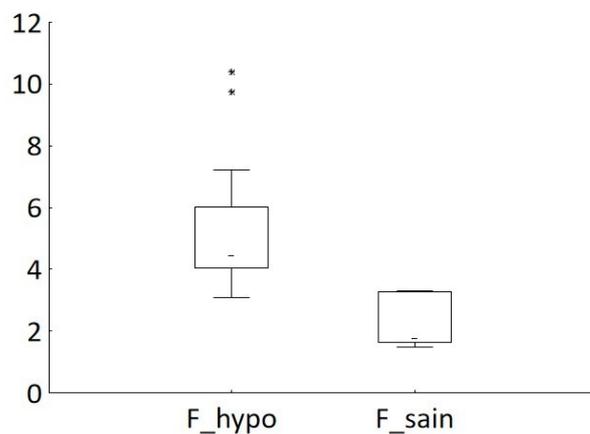


Figure 74. Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations de F (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

Les médianes des concentrations relatives en Zn dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain sont proches et incluses dans l'ensemble des données (Figure 75). Les valeurs en Zn présentent une distribution plus étendue dans l'émail hypominéralisé que dans l'émail sain. La totalité des valeurs de l'émail sain sont comprises dans les trois quarts des valeurs les plus élevées de l'émail hypominéralisé.

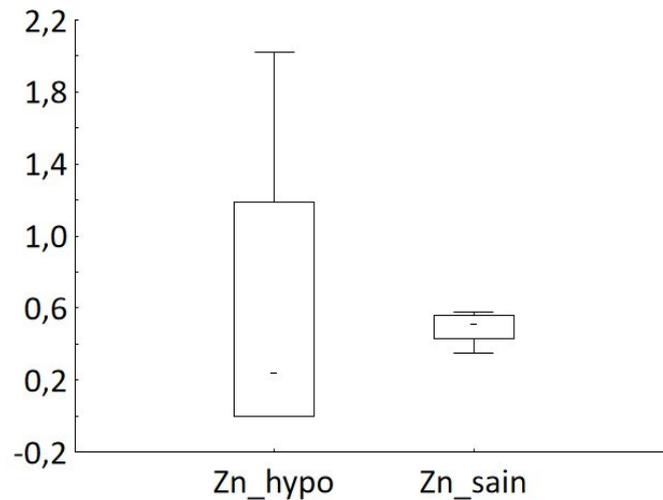


Figure 75. Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations de Zn (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

Les médianes des concentrations relatives en Na dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain sont proches et incluses dans l'ensemble des données (Figure 76). Les valeurs en Na présentent une distribution plus étendue dans l'émail hypominéralisé que dans l'émail sain.

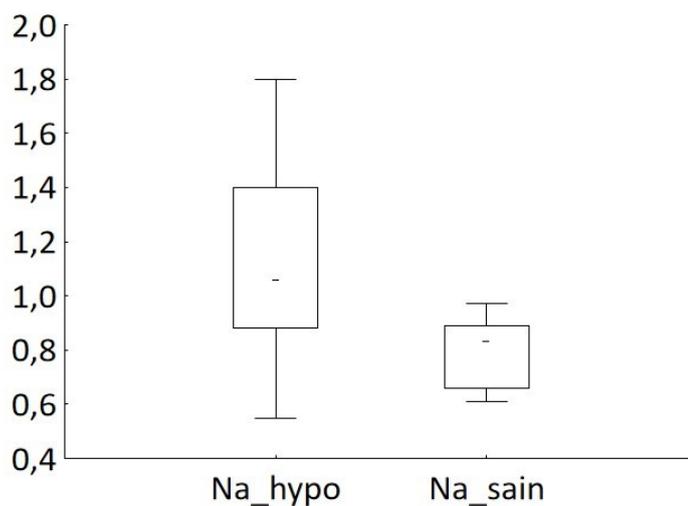
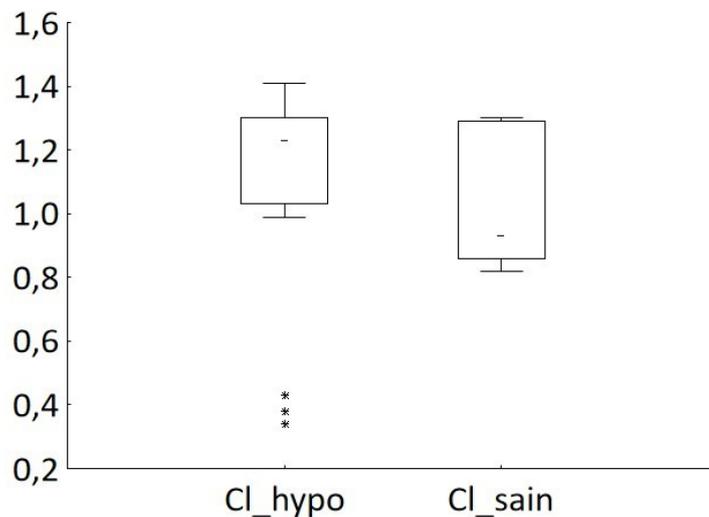


Figure 76. Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations relatives en Na (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

La médiane des concentrations relatives en Cl de l'émail hypominéralisé est incluse dans l'ensemble des données de l'émail sain (Figure 77). Les valeurs en Cl de l'émail sain présentent une distribution légèrement plus étendue que celles de l'émail hypominéralisé. Trois valeurs extrêmes inférieures se dégagent nettement de l'ensemble des données de l'émail hypominéralisé. Ces valeurs extrêmes se retrouvent également dans les valeurs les plus hautes de Na. Il pourrait s'agir d'une contamination par de l'hypochlorite de sodium (NaClO), un des milieux de conservation des dents. L'émail hypominéralisé étant plus poreux que l'émail sain, nous pouvons supposer que l'incorporation de NaClO est facilitée.



**Figure 77.** Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations en Cl (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

Les données relatives aux éléments suivants (Mg, Al, Si, S et Sc) ont été regroupées sur un même graphique en raison de la proximité de leurs valeurs (entre 0 et 1 ; Figure 78). À l'exception du Sc, les valeurs issues de l'émail hypominéralisé sont moins homogènes (distribution plus étendue) que celles de l'émail sain. À l'exception des valeurs extrêmes, les concentrations relatives en Mg, Al, Si et S issues de l'émail sain sont comprises dans la variabilité de l'émail hypominéralisé. Les médianes et la moitié supérieure des concentrations relatives en Mg, Al, Si, S et Sc de l'émail hypominéralisé sont plus élevées que celles de l'émail sain.

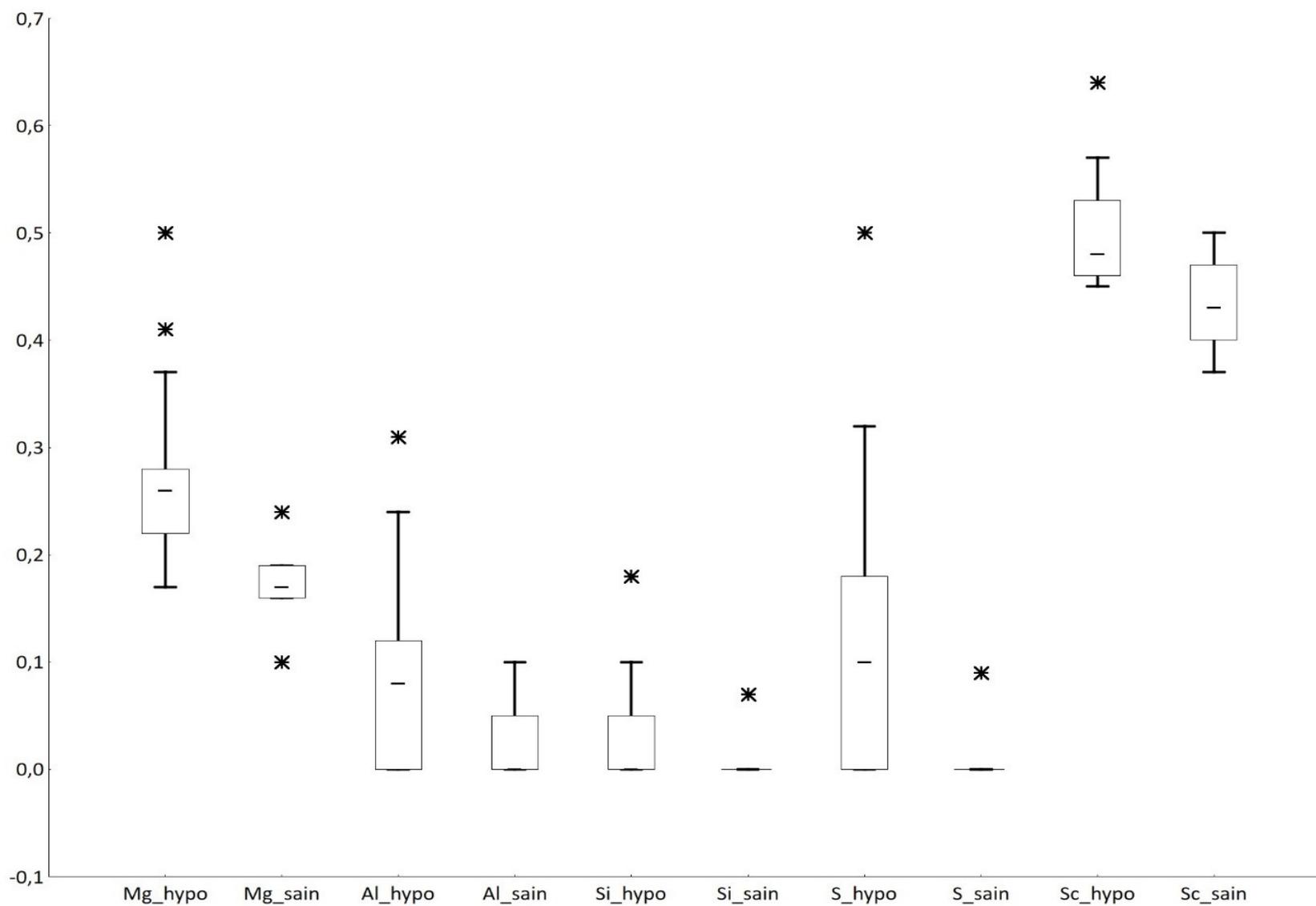


Figure 78. Diagramme de type boîte à moustache (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations en Mg, Al, Si, S et Sc (en % massique) des zones hypominéralisées (hypo) et saines.

Un test non-paramétrique a ensuite été effectué entre les valeurs prises dans l'émail sain et celles prises dans l'émail hypominéralisé (Tableau 39). Le ratio Ca/P est significativement plus faible dans l'émail hypominéralisé que dans l'émail sain ( $p=0,001$ ). Nous notons également des différences significatives en F, Na, Mg, Al, S et Sc (respectivement  $p=0,0001$  ;  $p=0,013$  ;  $p=0,001$  ;  $p=0,028$  ;  $p=0,038$  ;  $p=0,004$ ).

	U	Z	p-valeur
Ca/P	16	-3,3222	<b>0,001*</b>
F	2	-3,919	<b>0,0001*</b>
Na	36	-2,4718	<b>0,013*</b>
Mg	16,5	-3,3184	<b>0,001*</b>
Al	43,5	-2,1918	<b>0,028*</b>
Si	83	-0,63006	0,529
P	22,5	-3,0455	<b>0,002*</b>
S	49	-2,0774	<b>0,038*</b>
Cl	54	-1,7046	0,088
Ca	11	-3,5351	<b>0,0005*</b>
Sc	27	-2,8695	<b>0,004*</b>
Zn	57,5	-1,5747	0,115

Tableau 39. Test U de Mann-Whitney réalisé entre les concentrations en éléments chimiques entre l'émail sain (n=7) et l'émail hypominéralisé (n=27). \*  $p<0,05$ .

Ensuite, nous avons choisi d'analyser notre groupe de dents présentant une HMI et issu du vivant à l'aide de méthodes non-destructives qui pourront être appliquées à un échantillon archéologique (spectroscopie RAMAN, microtomographie et fluorescence X). L'objectif était de répondre à la question : est-il possible de différencier une zone atteinte par une hypominéralisation d'une zone saine sur une même dent ?

## 4.2. Données issues de la Spectroscopie RAMAN

Un échantillon de 12 dents actuelles présentant une HMI a été sélectionné et étudié en spectroscopie Raman.

### 4.2.1. Données qualitatives

Une étude de l'émail hypominéralisé par spectroscopie Raman étant inédite, nous nous sommes attachés dans un premier temps à comparer des spectres issus de zones saines en modifiant différents paramètres d'acquisition. Une fois le protocole établi, nous avons lancé des analyses à la fois dans une zone saine et une opacité de l'émail. Nous avons obtenu des

spectres de l'intensité (en coups) en fonction de la longueur d'onde (en  $\text{cm}^{-1}$ ) (Figure 79). En superposant un spectre réalisé dans une zone hypominéralisée (ligne en pointillés) et un spectre réalisé dans une zone saine (ligne continue), nous pouvons constater qu'à la longueur d'onde  $1070\mu\text{m}$ , le spectre de l'émail hypominéralisé est d'une intensité plus élevée. Cette longueur d'onde correspond au groupement du  $\beta$ -carbonate. Les autres groupements phosphates et carbonates restent similaires entre les 2 spectres. Afin de pouvoir comparer des spectres ensemble, sans avoir à les normaliser, nous avons utilisé le rapport entre les aires sous la courbe des pics de phosphate, qui est constant (A960), et de  $\beta$ -carbonate (A1070). En effet, l'intensité peut varier en fonction de l'orientation de la surface de la dent. Ne réalisant pas des mesures sur une surface plane, nous avons constaté des variations importantes au sein d'une même dent. Ainsi, ce résultat sans unité et normalisé nous permet de faire des comparaisons entre les différentes surfaces d'une même dent et entre toutes les dents de notre échantillon.

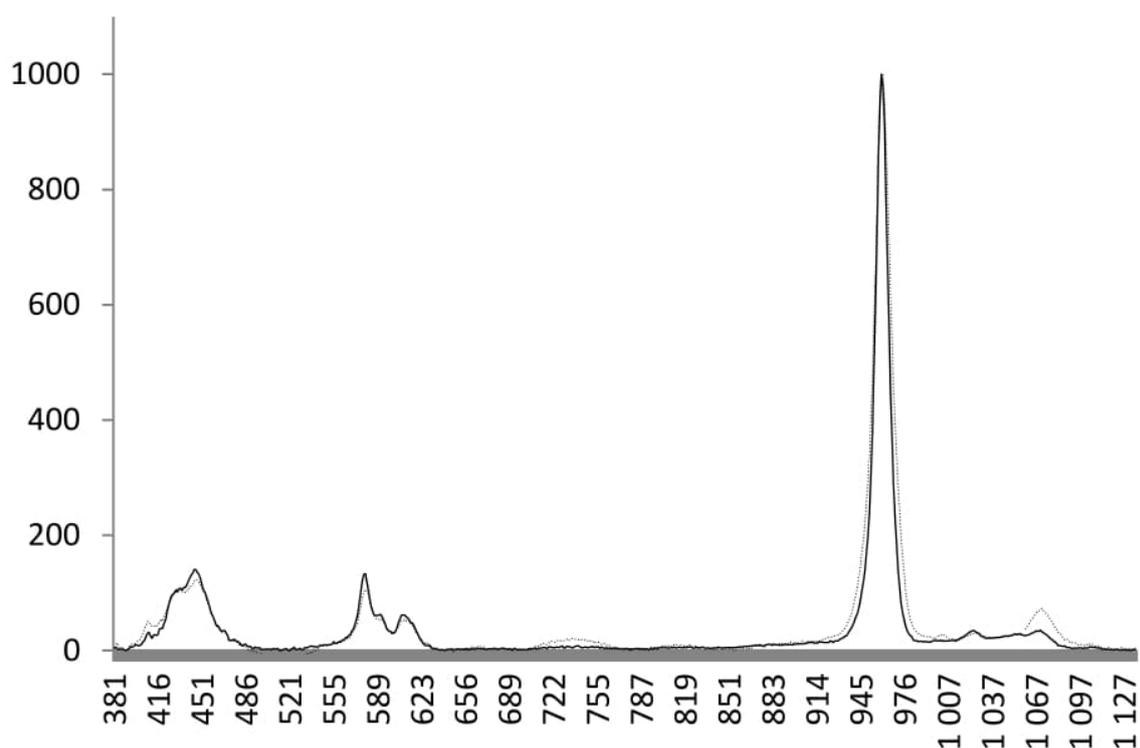


Figure 79. Spectres Raman de l'intensité (en coups) en fonction de la longueur d'onde (en  $\text{cm}^{-1}$ ) d'une zone hypominéralisée (ligne en pointillés) et d'une zone saine (ligne continue) issus d'une dent actuelle HMI.

#### 4.2.2. Données quantitatives

Nous avons réalisé trois mesures par zone analysée (hypominéralisée ou saine) à partir d'un échantillon de 12 dents présentant une HMI. La moyenne des ratios A960/A1070 de l'émail hypominéralisé est de  $10,2 \pm 2,5$  et celle de l'émail sain est de  $21,3 \pm 4,0$  (Tableau 40).

Les mesures issues de l'émail hypominéralisé sont moins dispersées que celles issues de l'émail sain (respectivement  $\sigma/m=4,08$  versus  $\sigma/m=5,325$ ).

Le test de Wilcoxon (test non-paramétrique pour échantillons appariés) met en évidence une différence significative ( $p=0,002$ ) entre les DM de l'émail hypominéralisé et de l'émail sain au sein d'une même dent.

n	hypominéralisé m ( $\sigma$ )	sain m ( $\sigma$ )	p-valeur
12	10,2 (2,5)	21,3 (4,0)	<b>0,002*</b>

**Tableau 40.** Test de Wilcoxon (test pour échantillons appariés) comparant les ratios A960/A1070 entre une zone hypominéralisée et une zone saine au sein de l'échantillon de dents présentant une HMI. A960/A1070 : Aire du phosphate ( $960 \text{ cm}^{-1}$ ) / Aire du  $\beta$ -Carbonate ( $1070 \text{ cm}^{-1}$ ), \*  $p<0,05$ .

### 4.3. Données issues de la microtomographie

Dans un premier temps, nous avons réalisé des mesures de DM sur des coupes en 2D en débutant de la JED et en continuant vers la surface de l'émail. Dans un second temps, nous avons réalisé des mesures en 3D en 5 points distincts (JED, surface,  $\frac{1}{2}$  JED-surface,  $\frac{1}{4}$  JED-surface,  $\frac{3}{4}$  JED-surface) à partir de la pile de données compilées et d'une reconstruction 3D. Ces mesures sont données en « valeurs de gris » soit en terme anglophone « grey level », abrégé en « GL ».

#### 4.3.1. Données en 2D

L'échantillon de 46 dents présentant une HMI comprend 28 opacités beiges, 27 opacités jaune-brunes, 7 opacités blanches et 2 opacités à la fois beige/jaune-brune (classées dans la catégorie la plus foncée c'est-à-dire jaune-brune). En moyenne, une diminution de  $10\pm 4\%$  de la densité minérale est observée dans l'émail hypominéralisé (Tableau 41). La plus forte diminution (16%) de la DM est enregistrée aux trois quarts de l'épaisseur de l'émail en partant de la JED vers la surface (Tableau 41).

Mesures	Sain (moyenne en GL)	Hypominéralisé (moyenne en GL)	Différence (moyenne en GL)	Différence (moyenne en %)
1	43650	42451	1200	2,7
2	44395	42429	1966	4,4
3	45559	42781	2779	6,1
4	45493	43047	2446	5,4
5	46611	43632	2979	6,4
6	46469	42959	3510	7,6
7	46513	42498	4015	8,6
8	47147	42901	4247	9,0
9	46986	42804	4182	8,9
10	47952	42425	5527	11,5
11	47351	42431	4920	10,4
12	48684	41422	7261	14,9
13	48415	41611	6804	14,1
14	49122	41256	7866	16,0
15	49313	41516	7797	15,8
16	49609	42187	7422	15,0
17	49818	43148	6669	13,4
18	51041	44251	6790	13,3
19	51823	46983	4840	9,3
20	36739	34079	2660	7,2
<b>Moyenne</b>	<b>47135</b>	<b>42340</b>	<b>4794</b>	<b>10,0</b>
<b>Ecart type</b>	<b>3228</b>	<b>2302</b>	<b>2113</b>	<b>4,0</b>

**Tableau 41. Densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée et saine.**

Dans l'émail sain, la densité minérale augmente de la JED jusqu'à la sub-surface (Figure 80). Le dernier point (n°20) correspond à la transition émail/air :

$$DM_{20} = (\text{dernier pixel d'émail} + \text{premier pixel de vide}) / 2$$

Nous pouvons considérer que le point le plus proche de la surface de l'émail correspond au point n°19.

Au sein de l'émail hypominéralisé, la densité minérale à la JED est presque similaire à celle de l'émail sain. La DM est décroissante jusqu'aux trois quarts de l'épaisseur, puis croissante jusqu'à la surface de l'émail (Figure 80). Cette densité minérale va atteindre son minimum dans le 3<sup>ème</sup> quart d'émail (entre les points n°10 à 15). Nous pouvons noter que la surface de l'émail hypominéralisé (n°19) atteint des valeurs comparables à celles de l'émail sain dans sa profondeur, c'est-à-dire au niveau du point n°8.

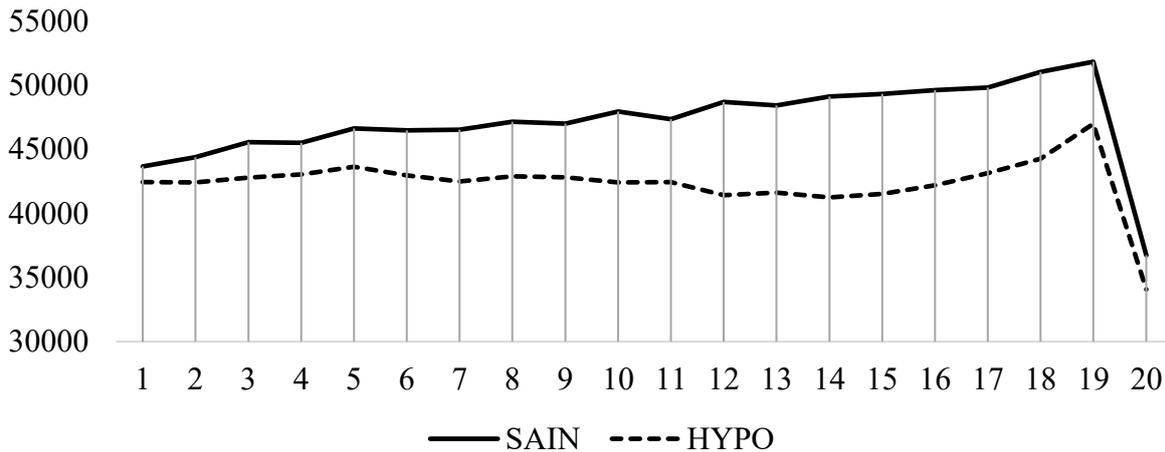


Figure 80. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones hypominéralisée (ligne en tiret) et saine (ligne continue).

La Figure 81 représente les moyennes des densités minérales partant de la JED vers la surface de l'émail sain. Cet émail sain est issu des dents présentant des hypominéralisations (blanche, beige ou jaune-brune). Lorsque deux opacités sont présentes sur une même dent l'opacité la plus foncée est attribuée (jaune-brune>beige>blanche). Les densités minérales de l'émail sain des dents présentant des opacités blanches ou beiges apparaissent similaires. La densité minérale de l'émail sain issu des dents présentant des opacités jaune-brunes est légèrement inférieure à celle des dents présentant des opacités blanches et beiges mais l'allure des courbes apparaît identique c'est-à-dire qu'elle croît progressivement depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail (points n°1 à 19).

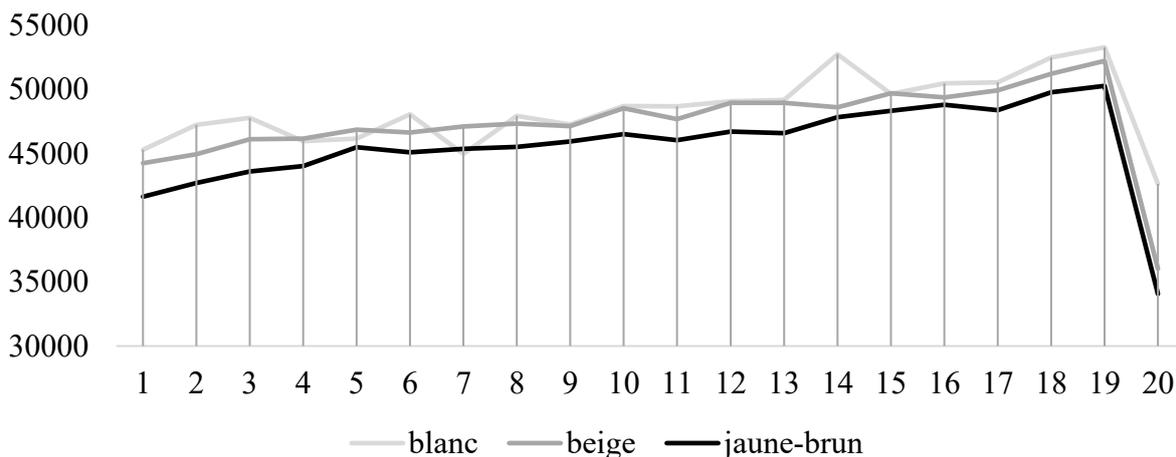


Figure 81. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») de l'émail sain, mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail en fonction de la couleur de l'émail hypominéralisé (blanc, beige et jaune-brun) situé sur les dents dont il est issu.

Les mesures prises dans l'émail sain des différentes dents présentant une HMI ont été additionnées (c'est à dire blanche, beige et jaune-brune) et comparées aux mesures prises dans l'émail hypominéralisé blanc, beige et jaune-brun (Figure 82). L'émail hypominéralisé blanc montre des DM similaires à l'émail sain des dents présentant une HMI dans la première moitié interne de l'émail (des points n°1 à 10). Dans la moitié externe de l'émail (des points n°10 à 19), la DM de l'émail hypominéralisé blanc est légèrement inférieure à celle de l'émail sain tout en conservant une allure de courbe similaire, c'est à dire croissante de la JED à la surface. *A contrario*, dans l'émail hypominéralisé beige et jaune-brun, les courbes de DM sont constantes de la JED à mi-distance de l'épaisseur de l'émail (des points n°1 à 10) puis décroissent dans le 3<sup>ème</sup> quart d'émail pour ensuite augmenter dans le dernier quart d'émail (le plus proche de la surface ; des points n°15 à 19). Plus la couleur de l'émail hypominéralisé est foncée (c'est à dire jaune-brun > beige > blanche), plus la densité minérale apparait diminuée par rapport à celle de l'émail sain.

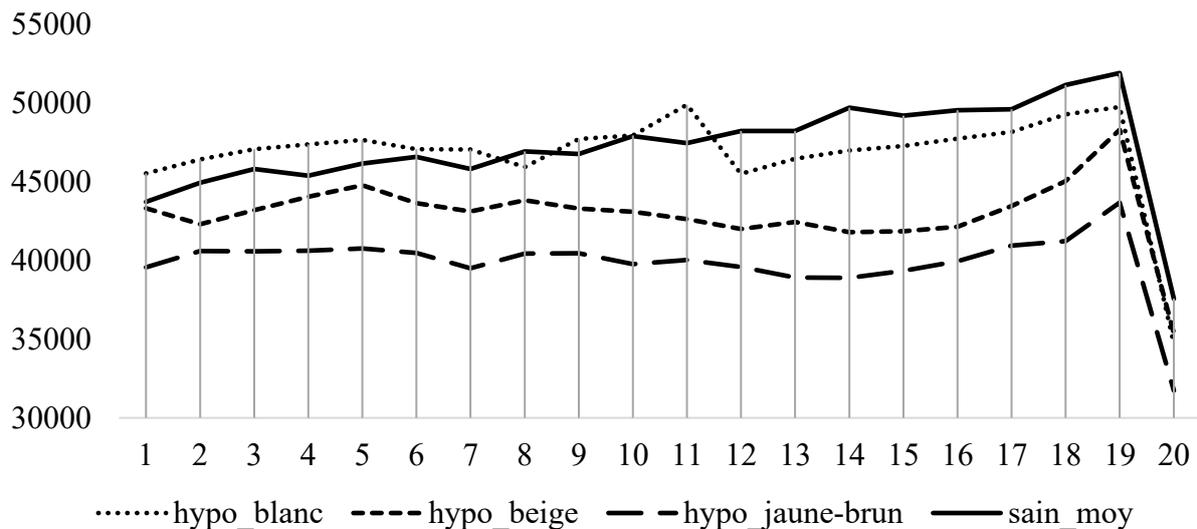


Figure 82. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL » mesurées en fonction des 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail) de l'émail sain et de l'émail hypominéralisé (jaune-brun, beige et blanc).

Les valeurs des 20 DM prises à intervalles réguliers sur la ligne partant depuis la JED jusqu'à la surface ont été comparées entre l'émail hypominéralisé et l'émail sain au sein d'une même dent (Tableau 42). Le test de Wilcoxon pour échantillons appariés montre qu'il existe une différence significative ( $p < 0,001$ ) entre les DM de l'émail hypominéralisé et celles de l'émail sain.

Paires de variables	Valide (n)	T	Z	p-valeur
sain et hypominéralisé	1080	65817,00	22,04773	<b>0,001E<sup>-17</sup>*</b>

Tableau 42. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisé entre les zones hypominéralisées et saines au sein d’une même dent. \* p<0,05, n :effectif.

### 4.3.2. Données en 3D

A partir d’un effectif de 44 dents présentant une HMI, des mesures en 3D ont été enregistrées en 5 cubes équidistants depuis la JED à la surface de l’émail. La diminution de la DM de l’émail hypominéralisé par rapport à l’émail sain est comprise entre 5,1% et 15,1% (Tableau 43). La plus forte diminution de la DM (15,1%) est enregistrée aux trois quarts de l’épaisseur de l’émail en partant de la JED vers la surface.

zone	JED	1/4	mi-distance	3/4	surface
Hypominéralisé (m en GL)	<b>42283</b>	<b>42685</b>	<b>42109</b>	<b>41268</b>	<b>46750</b>
Hypominéralisé (σ en GL)	6832	6607	6667	7017	7781
Sain (m en GL)	<b>44543</b>	<b>45842</b>	<b>47057</b>	<b>48584</b>	<b>50358</b>
Sain (σ en GL)	7084	7029	7302	7542	9089
Différence (GL)	<b>2260</b>	<b>3157</b>	<b>4948</b>	<b>7316</b>	<b>3608</b>
Différence (%)	5,1	6,9	10,5	15,1	7,2

Tableau 43. Densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants depuis la JED jusqu’à la surface de l’émail dans des zones hypominéralisée et saine. m : moyenne, σ : écart type et % : pourcentage.

La DM de l’émail sain est croissante de la JED jusqu’à la surface de l’émail (Figure 83). Au sein de l’émail hypominéralisé, la DM est constante dans le premier quart de l’émail, décroît ensuite jusqu’aux trois quarts puis augmente dans le dernier quart.

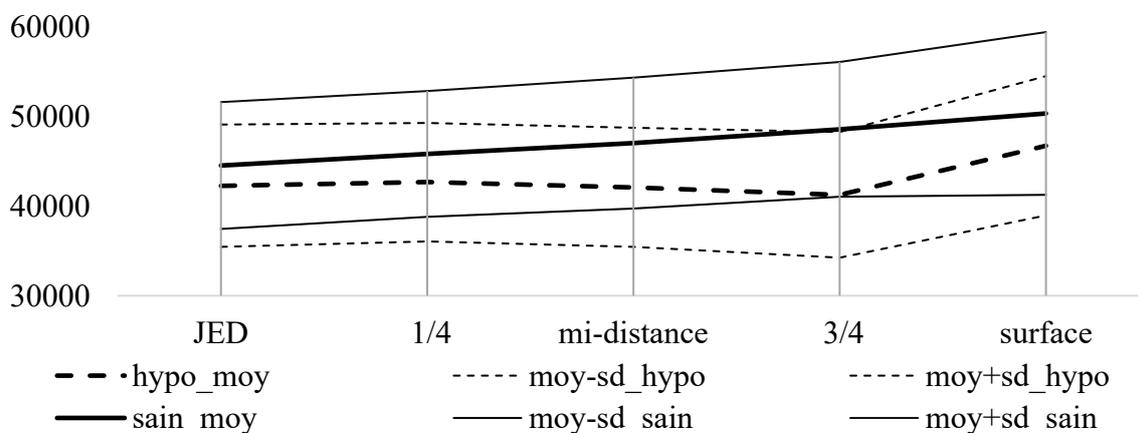
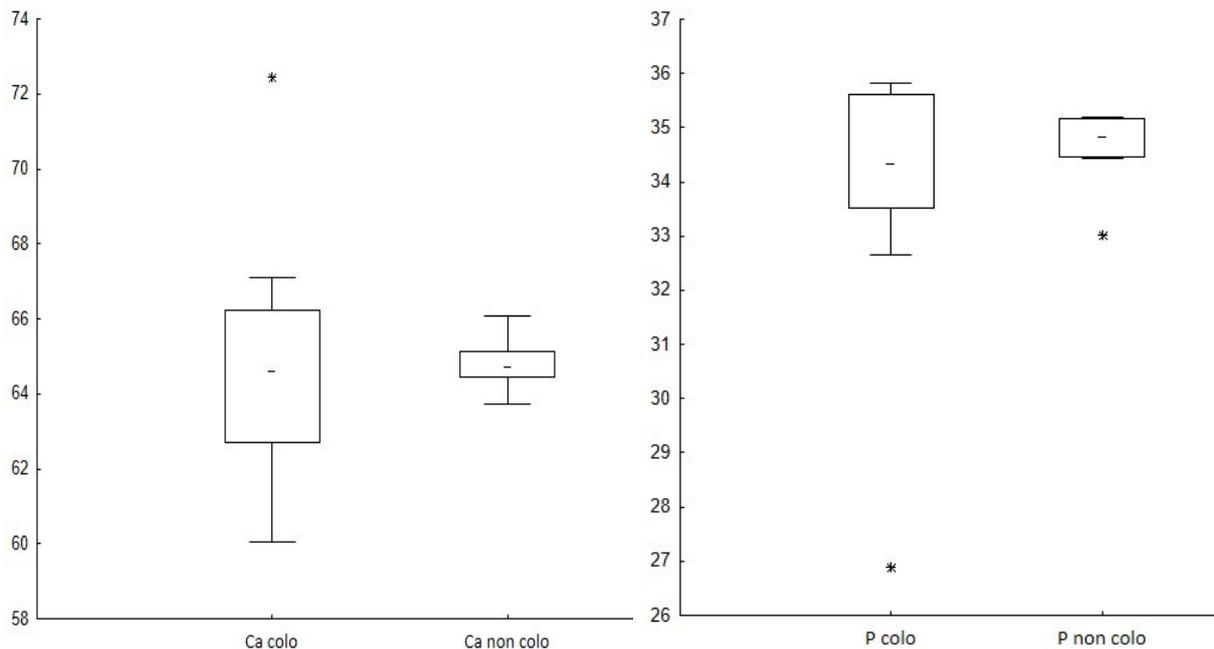


Figure 83. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 5 cubes équidistants depuis la JED jusqu’à la surface de l’émail dans des zones hypominéralisée et saine.

#### 4.4. Données issues de la fluorescence X

La fluorescence X a par la suite été utilisée pour connaître les différentes teneurs de l'émail en éléments susceptibles d'induire des colorations taphonomiques tels que le Mn ou le Fe. Ainsi, il est impératif au préalable de vérifier que ces teneurs ne varient pas au sein de l'émail hypominéralisé et de l'émail sain de dents actuelles. Afin de savoir si les dents hypominéralisées présentaient des différences de concentrations en éléments majeurs tels que le Ca et le P, ainsi qu'en éléments mineurs tels que le Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr et le Pb, nous avons réalisé des analyses en fluorescence X sur 10 dents présentant une HMI à partir de notre échantillon de dents actuelles.

Nous pouvons observer que les médianes de Ca et de P dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain restent très proches, mais que les valeurs présentent une distribution plus étendue dans l'émail hypominéralisé (Figure 84).



**Figure 84.** Diagrammes de type boîte à moustaches (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations (% massique) en P et Ca des zones hypominéralisées (colo) et saines.

Le test de Wilcoxon (test non-paramétrique pour échantillons appariés) réalisé entre des zones d'émail hypominéralisé et d'émail sain ne met pas en évidence de différence significative des concentrations en Ca et de P (respectivement,  $p=0,51$  et  $p=0,96$  ; Tableau 44b).

	Dent	Zone	P	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Sn	Sr	Pb	Ca/P
a.	ACT_4	Hypo	33,526	66,241	0,033	0,012	0,007	0,068	0,062	0,048	0,004	1,98
		Saine	34,809	64,758	0,019	0,011	0,004	0,317	0,047	0,033	0,003	1,86
	ACT_5	Hypo	26,882	72,449	0,023	0,023	0,008	0,136	0,053	0,421	0,005	2,73
		Saine	34,423	65,112	0,020	0,015	0,004	0,281	0,067	0,074	0,003	1,89
	ACT_1	Hypo	34,244	65,470	0,019	0,014	0,004	0,134	0,056	0,056	0,003	1,91
		Saine	34,870	64,643	0,016	0,016	0,005	0,375	0,037	0,035	0,003	1,85
	ACT_2	Hypo	34,355	64,048	0,080	0,021	0,020	1,337	0,085	0,051	0,004	1,86
		Saine	35,206	63,745	0,031	0,012	0,031	0,573	0,364	0,036	0,002	1,81
	ACT_7b	Hypo	32,664	67,085	0,021	0,013	0,008	0,021	0,063	0,122	0,004	2,05
		Saine	34,468	65,336	0,024	0,012	0,006	0,048	0,035	0,068	0,003	1,90
	ACT_13b	Hypo	35,526	60,049	0,030	0,017	0,020	4,270	0,039	0,046	0,003	1,69
		Saine	34,507	64,829	0,027	0,016	0,007	0,551	0,032	0,028	0,003	1,88
	ACT_2	Hypo	35,613	62,695	0,028	0,010	0,004	0,219	0,048	1,381	0,002	1,76
		Saine	35,169	64,439	0,020	0,009	0,006	0,283	0,043	0,029	0,003	1,83
	ACT_17	Hypo	35,823	63,786	0,023	0,007	0,003	0,291	0,039	0,025	0,004	1,78
		Saine	35,063	64,546	0,021	0,011	0,004	0,293	0,034	0,026	0,003	1,84
	ACT_15	Hypo	34,292	65,180	0,021	0,048	0,004	0,367	0,038	0,044	0,006	1,90
		Saine	33,009	66,069	0,037	0,254	0,005	0,515	0,060	0,048	0,004	2,01
	ACT_9	Hypo	35,613	62,695	0,028	0,010	0,004	0,219	0,048	1,381	0,002	1,76
		Saine	35,169	64,439	0,020	0,009	0,006	0,283	0,043	0,029	0,003	1,83
	<b>m</b>	<b>Hypo</b>	<b>33,854</b>	<b>64,970</b>	<b>0,031</b>	<b>0,017</b>	<b>0,008</b>	<b>0,706</b>	<b>0,053</b>	<b>0,357</b>	<b>0,004</b>	<b>1,94</b>
	$\sigma$	Hypo	2,658	3,319	0,018	0,012	0,007	1,308	0,014	0,552	0,001	0,3
	<b>m</b>	<b>Saine</b>	<b>34,669</b>	<b>64,792</b>	<b>0,023</b>	<b>0,037</b>	<b>0,008</b>	<b>0,352</b>	<b>0,076</b>	<b>0,040</b>	<b>0,003</b>	<b>1,87</b>
	$\sigma$	Saine	0,657	0,620	0,006	0,076	0,008	0,159	0,102	0,017	0,000	0,06
b.	p-valeur		0,51	0,96	0,17	0,65	0,88	0,39	0,65	<b>0,01*</b>	0,07	0,96

Tableau 44. (a) Concentrations relatives (en % massique) des éléments majeurs tels que le Ca et le P ainsi que des éléments mineurs tels que le Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr et le Pb, contenues dans l'émail sain et dans l'émail hypominéralisé (hypo) de dents actuelles présentant une HMI. (b) Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre l'émail hypominéralisé et l'émail sain.

Les moyennes des ratios de Ca/P varient faiblement entre un émail hypominéralisé et un émail sain (respectivement  $m=1,94$  et  $m=1,87$  ; Tableau 44a) mais se distribuent de manière plus étendue dans l'émail hypominéralisé (Figure 85). Le test de Wilcoxon confirme cette similarité en ne mettant pas en évidence de différence significative dans les ratios Ca/P de l'émail sain et de l'émail hypominéralisé ( $p=0,96$  ; Tableau 44b).

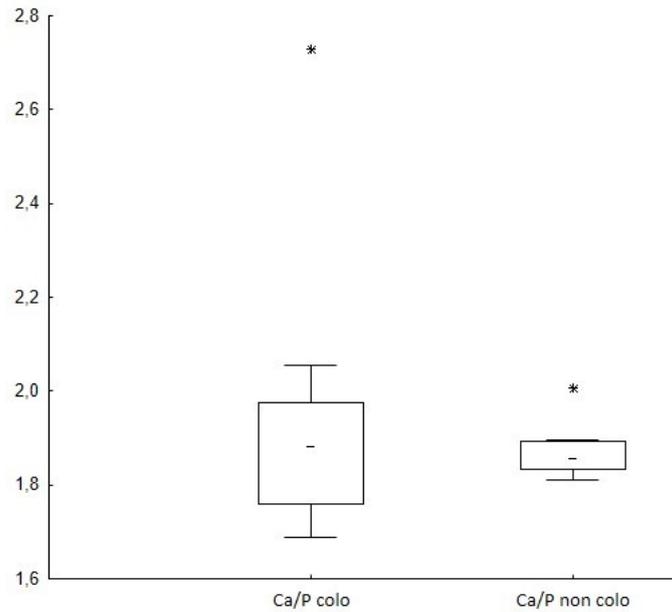


Figure 85. Diagramme de type boîte à moustaches (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des ratios de Ca/P des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo).

Nous pouvons observer que les médianes des éléments mineurs (Mn, Cu, Pb) dans l'émail hypominéralisé et dans l'émail sain restent très proches (Figure 86). Il n'existe pas de différence significative entre les concentrations de chacun de ces éléments (Mn, Cu et Pb) au sein de notre échantillon (respectivement  $p=0,17$ ,  $p=0,88$  et  $p=0,07$  ; Tableau 44).

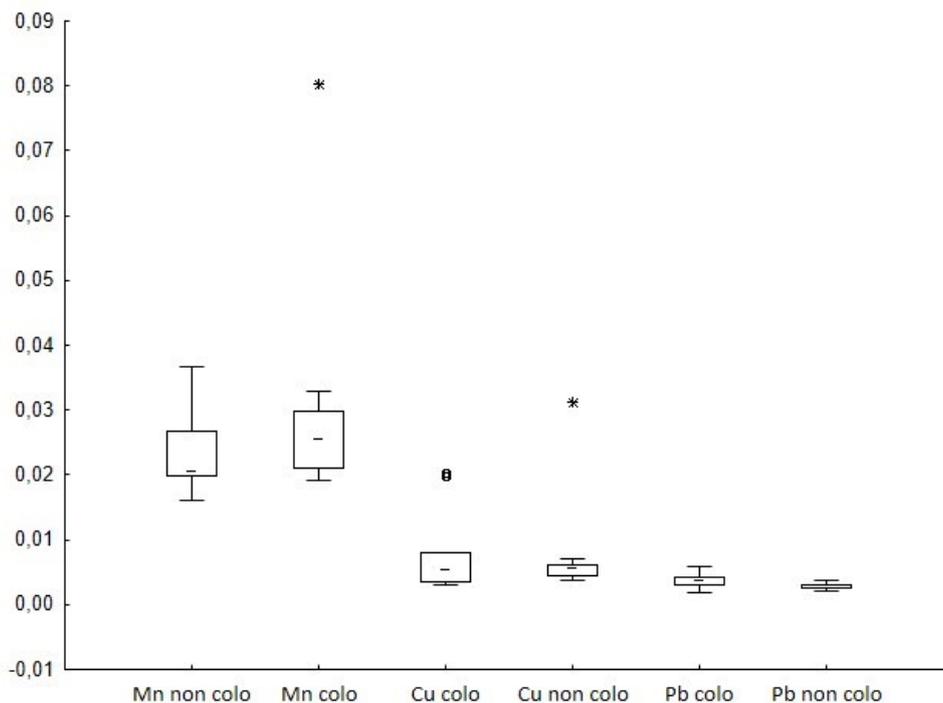


Figure 86. Diagrammes de type boîte à moustaches (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations (% massique) en Mn, en Cu et en Pb des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo).

A l'exception du Sr, la distribution des valeurs pour un même élément est d'une étendue relativement comparable (Figure 87). L'émail hypominéralisé présente des concentrations significativement plus élevées en Sr par rapport à l'émail sain (respectivement  $m=0,357$  et  $m=0,40$ ;  $p=0,013$ ; Tableau 44). Nous observons que le Zn présente également des concentrations moyennes plus élevées dans l'émail hypominéralisé que dans l'émail sain (respectivement  $m=0,706$  et  $m=0,352$ ; Tableau 44). Cette différence est non significative ( $p=0,386$ ; Tableau 44). Elle pourrait s'expliquer par la présence de deux valeurs extrêmes (1,337 et 4,270; Tableau 44a et Figure 87).

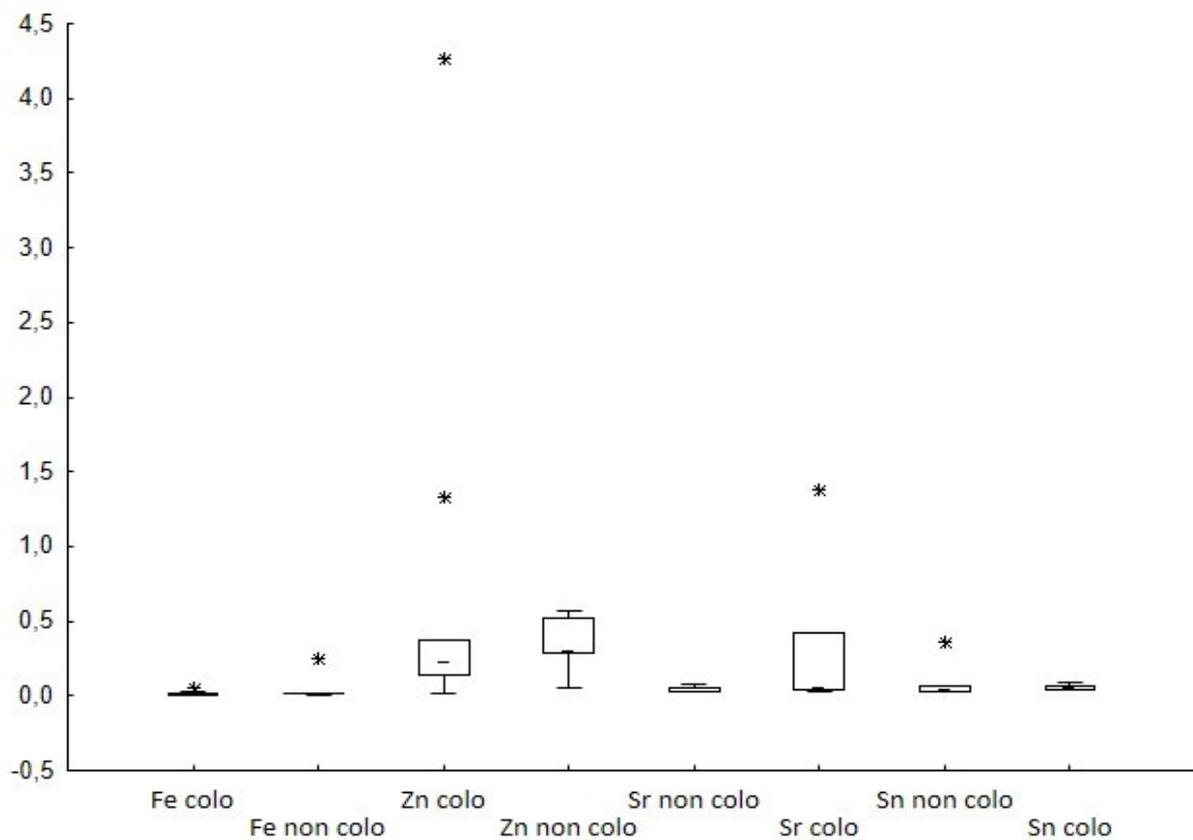


Figure 87. Diagrammes de type boîte à moustaches (*box plot*) représentant la distribution, les médianes (-) et les valeurs extrêmes (\*) des concentrations (% massique) en Fe, Zn, Sr et en Sn des zones hypominéralisées (colo) et saines (non colo).

## 5. Caractérisation de l'émail coloré par taphonomie

---

Dans cette partie portant sur la caractérisation de l'émail coloré par taphonomie, le but des analyses à venir sont :

- de définir une méthode qui permettrait d'identifier et de quantifier les composants à l'origine de ces colorations,
- de tester statistiquement si le diagnostic de coloration taphonomique avancé par l'intermédiaire de cette méthode est significatif et fiable,
- de vérifier si ces colorations taphonomiques n'engendrent pas de défauts comparables à ceux retrouvés dans les HMI, à savoir une diminution de la densité minérale et une augmentation du ratio A960/A1070 (*confer* chapitre 5 §4.2. et §4.3.).

Afin de caractériser l'émail coloré par taphonomie, nous avons inclus 10 dents dont le diagnostic de coloration taphonomique est certain, c'est-à-dire un individu comportant des colorations sur les dents adjacentes ainsi que sur l'os de soutien. Ainsi, l'individu SeG\_484 présentant des colorations sur toutes les dents mandibulaires gauches et sur l'os mandibulaire a été inclus (dent n° 36 ; photographies en Annexe 11) dans l'échantillon « taphonomie », de même que les individus JAU\_152 (dents n° 46, 34, 35, 36 et 16 ; photographies en Annexe 12) et JAU\_2001 (dents n° 27, 47, 28 et 48 ; photographies en Annexe 13).

### 5.1. Données issues de la fluorescence X

Dans le cadre de l'analyse en fluorescence X, 9 dents ont été analysées : SeG\_484\_36, JAU\_152\_46, JAU\_152\_34, JAU\_152\_36, JAU\_152\_16, JAU\_2001\_27, JAU\_2001\_47, JAU\_2001\_28 et JAU\_2001\_48. La moyenne des concentrations de chaque élément chimique (P, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr, Pb, Ca/P) recueillie dans une zone colorée et une zone non colorée de ces 9 dents a été reportée dans le Tableau 45. Seuls les éléments dont les concentrations augmentent d'un facteur minimum de 2 dans l'émail coloré sont sélectionnés à savoir le Mn, le Fe, le Cu et le Pb. Les oxydes de Mn et de Fe peuvent colorer l'émail dentaire (Kohn *et al.* 1999). D'autres auteurs ont également rapporté que les concentrations en Cu et en Pb peuvent être plus élevées dans l'émail coloré par taphonomie (Watts et Addy 2001, Brook *et al.* 2007).

La liste finale des éléments retenus pour les analyses statistiques incluent donc : Mn, Fe, Cu et Pb.

Le ratio Ca/P est proche de celui de l'émail sain des dents actuelles ce qui laisse présager que la structure de l'émail ne serait pas dégradée par le processus taphonomique.

Eléments chimiques	m (Colo)	$\sigma$ (Colo)	m (No)	$\sigma$ (No)
P	<b>33,29</b>	0,72	<b>33,85</b>	0,44
Ca	<b>65,31</b>	0,72	<b>65,64</b>	0,40
Mn	<b>0,12</b>	0,11	<b>0,03</b>	0,01
Fe	<b>0,81</b>	0,36	<b>0,15</b>	0,03
Cu	<b>0,02</b>	0,01	<b>0,01</b>	0,00
Zn	<b>0,21</b>	0,07	<b>0,24</b>	0,04
Sn	<b>0,05</b>	0,01	<b>0,04</b>	0,01
Sr	<b>0,05</b>	0,01	<b>0,03</b>	0,00
Pb	<b>0,16</b>	0,10	<b>0,02</b>	0,01
Ca/P	<b>1,97</b>	0,06	<b>1,94</b>	0,04

Tableau 45. Concentrations relatives (pourcentage massique, w%) des éléments majeurs (P et Ca) et des éléments mineurs (Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr et Pb) pour l'émail coloré (Colo) et l'émail normal (No), issues des 9 dents colorées par taphonomie (TPH). La sélection grisée comprend les éléments chimiques augmentant d'un facteur minimum de 2 dans l'émail coloré. m : moyenne,  $\sigma$  : écart type.

Le test de Wilcoxon pour échantillons appariés a mis en évidence des différences significatives dans les concentrations relatives en Mn, Fe, Cu et Pb pour chacune des dents de notre échantillon ( $p < 0,05$  ; Tableau 46).

série	Ind_n°dent	p-valeur
JAU_152_16		<b>0,025*</b>
JAU_152_34		<b>0,012*</b>
JAU_152_36		<b>0,012*</b>
JAU_152_46		<b>0,012*</b>
JAU_2001_27		<b>0,012*</b>
JAU_2001_47		<b>0,025*</b>
JAU_2001_28		<b>0,012*</b>
JAU_2001_46		<b>0,017*</b>
SeG_484_36		<b>0,017*</b>

Tableau 46. Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les concentrations relatives en Mn, Cu, Fe et Pb entre l'émail normal et l'émail coloré. \* statistiquement significatif ( $p < 0,05$ ). m : moyenne ;  $\sigma$  : écart type.

## 5.2. Données issues de la spectroscopie Raman

L'échantillon analysé comprend 10 dents colorées par taphonomie : les dents n° 46, 34, 35, 36 et 16 de JAU\_152, les dents n° 27, 28, 47 et 48 de JAU\_2001 et la dent n° 36 de SeG\_484.

Le ratio A960/A1070 a été analysé pour chaque dent, à la fois dans une zone colorée et dans une zone saine (Tableau 47). Les moyennes des ratios A960/A1070 sont de  $12,0 \pm 3,4$  et de  $13,3 \pm 2,9$  respectivement dans l'émail coloré et dans l'émail sain.

spécimen	zone	A960/A1070	A960/A1070	A960/A1070	m	$\sigma$
		1	2	3		
SeG_484_36	Colorée	7,7	13,6	7,0	<b>9,4</b>	3,6
	Saine	10,8	10,0	9,0	<b>9,9</b>	0,9
JAU_152_34	Colorée	11,3	11,5	18,3	<b>13,7</b>	4,0
	Saine	10,8	10,1	10,1	<b>10,4</b>	0,4
JAU_152_16	Colorée	12,7	13,7	13,6	<b>13,3</b>	0,5
	Saine	15,0	11,5	10,6	<b>12,4</b>	2,3
JAU_152_46	Colorée	11,3	12,9	6,1	<b>10,1</b>	3,5
	Saine	17,4	15,0	17,9	<b>16,8</b>	1,6
JAU_152_35	Colorée	9,8	18,0	22,3	<b>16,7</b>	6,3
	Saine	16,4	12,1	14,6	<b>14,4</b>	2,2
JAU_152_36	Colorée	7,4	11,3	15,2	<b>11,3</b>	3,9
	Saine	17,4	15,0	17,9	<b>16,8</b>	1,6
JAU_2001_47	Colorée	12,3	11,8	8,9	<b>11,0</b>	1,9
	Saine	10,7	13,5	15,1	<b>13,1</b>	2,2
JAU_2001_28	Colorée	11,3	10,4	12,8	<b>11,5</b>	1,2
	Saine	10,4	16,7	14,8	<b>14,0</b>	3,2
JAU_2001_48	Colorée	11,4	12,2	15,2	<b>12,9</b>	2,0
	Saine	9,5	12,4	13,1	<b>11,7</b>	1,9
JAU_2001_27	Colorée	12,1	10,1	9,1	<b>10,5</b>	1,6
	Saine	12,0	9,5	18,3	<b>13,2</b>	4,5

Tableau 47. Comparaison des ratios A960/A1070 entre l'émail normal et l'émail coloré de dents colorées par taphonomie (TPH). m : moyenne,  $\sigma$  : écart type.

Le test de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les 30 ratios mesurés dans l'émail coloré et les 30 ratios mesurés dans l'émail sain ne montre aucune différence significative ( $p=0,19$ ) entre l'émail coloré et l'émail sain (Tableau 48).

n PMP	n mesures	Ratio A960/A1070		p-valeur
		Émail coloré m ( $\sigma$ )	Émail sain m ( $\sigma$ )	
10	60	12,0 (3,4)	13,3 (2,9)	0,19

Tableau 48. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les ratios A960/A1070 entre l'émail sain et l'émail coloré. n : nombre, ratio A960/A1070 : Aire de phosphate ( $960 \text{ cm}^{-1}$ ) / Aire de  $\beta$ -Carbonate ( $1070 \text{ cm}^{-1}$ ), m : moyenne et  $\sigma$  : écart type.

### 5.3. Données issues de la microtomographie

L'échantillon analysé comprend 7 dents colorées par taphonomie. Nous avons sélectionné sur le spécimen JAU\_152 les dents n° 16 et 36, sur le spécimen JAU\_2001 les dents n° 27, 28, 47 et 48 et sur le spécimen SeG\_484 la dent n°36.

#### 5.3.1. Données en 2D

La DM de l'émail coloré est plus faible en moyenne de  $9\pm 2,6\%$  (Tableau 49).

Mesures	sain (moyenne en <i>GL</i> )	coloré (moyenne en <i>GL</i> )	différence (moyenne en <i>GL</i> )	différence (moyenne en %)
1	50608	47545	3064	6,1
2	49374	46008	3366	6,8
3	52051	47679	4372	8,4
4	50911	47897	3014	5,9
5	49941	47309	2632	5,3
6	49708	46330	3378	6,8
7	51101	46730	4371	8,6
8	50086	46282	3804	7,6
9	53733	45273	8460	15,7
10	51504	46556	4948	9,6
11	51432	48348	3084	6,0
12	52322	47549	4773	9,1
13	52025	47259	4766	9,2
14	53586	48331	5255	9,8
15	52515	48347	4168	7,9
16	53694	48222	5472	10,2
17	53307	47568	5738	10,8
18	56058	48720	7338	13,1
19	52576	46456	6120	11,6
20	41440	37461	3979	9,6
<b>m</b>	<b>51399</b>	<b>46794</b>	<b>4605</b>	<b>9,0</b>
$\sigma$	2866	2382	1500	2,6

**Tableau 49. Densités minérales (en niveaux de gris « *GL* ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones colorée et saine.**

La densité minérale est constante dans les épaisseurs de l'émail sain et de l'émail coloré jusqu'à la dernière mesure prise en surface où une nette diminution de la densité minérale se produit (Tableau 42 et Figure 88). Le dernier point (n°20) correspond à la transition émail/air :  $DM_{20} = (\text{dernier pixel d'émail} + \text{premier pixel de vide})/2$ . Nous pouvons considérer que la surface de l'émail correspond au point n°19.

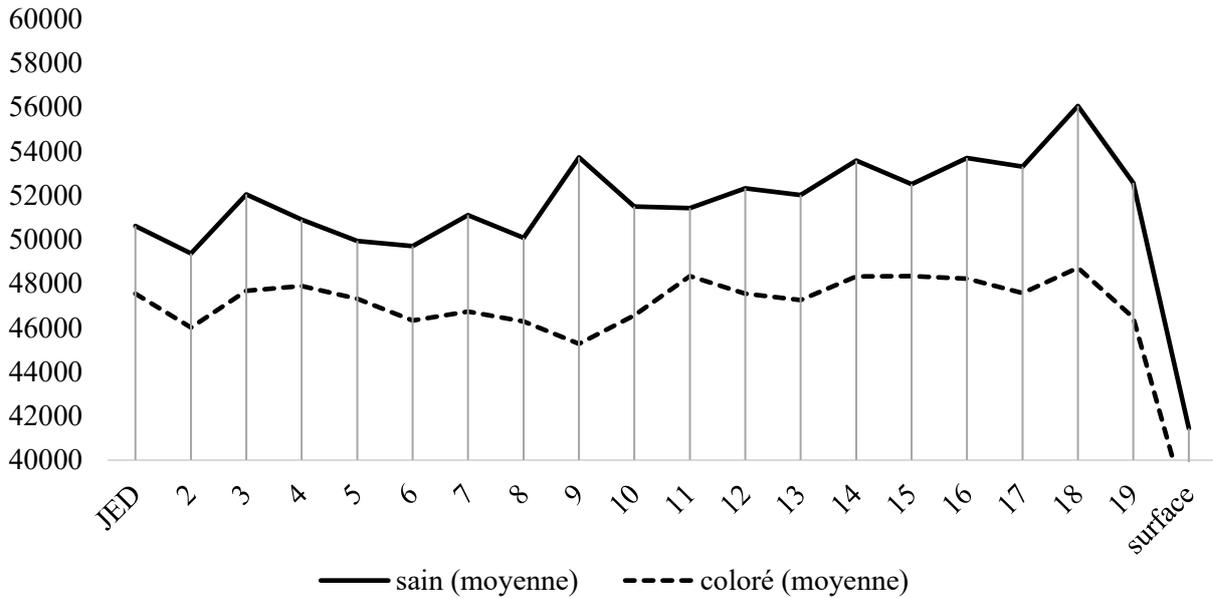


Figure 88. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 20 points équidistants depuis la JED jusqu'à la surface de l'émail dans des zones colorées (ligne en tirets) et saines (ligne continue) issues de l'échantillon de dents colorées par taphonomie.

Le test de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisé entre une zone colorée et une zone non colorée au sein d'une même dent met en évidence une différence significative entre les DM des zones colorées et non colorées au sein de 3 dents sur 7 ( $p < 0,05$  ; Tableau 50). Ces 3 dents appartiennent à 2 individus (SeG\_484 et JAU\_152).

Spécimens	Z	p-valeur
JAU_152_36	3,770600	<b>0,0002*</b>
JAU_152_16	3,919930	<b>0,00009*</b>
JAU_2001_27	1,007982	0,31
JAU_2001_28	1,343976	0,18
JAU_2001_47	0,485325	0,63
JAU_2001_48	1,119980	0,26
SeG_484_36	3,919930	<b>0,00009*</b>

Tableau 50. Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre les DM des zones colorées et saines au sein d'une même dent. \*  $p < 0,05$ .

### 5.3.2. Données en 3D

Nous observons que la DM est constante dans toute l'épaisseur de l'émail coloré (Figure 89). *A contrario*, dans l'émail sain, la DM augmente en allant de la JED vers la surface. Le processus de taphonomie engendrerait donc une diminution de la densité minérale qui

débuterait à la surface de l'émail et diminuerait d'intensité au cours de sa progression dans la profondeur de l'émail.

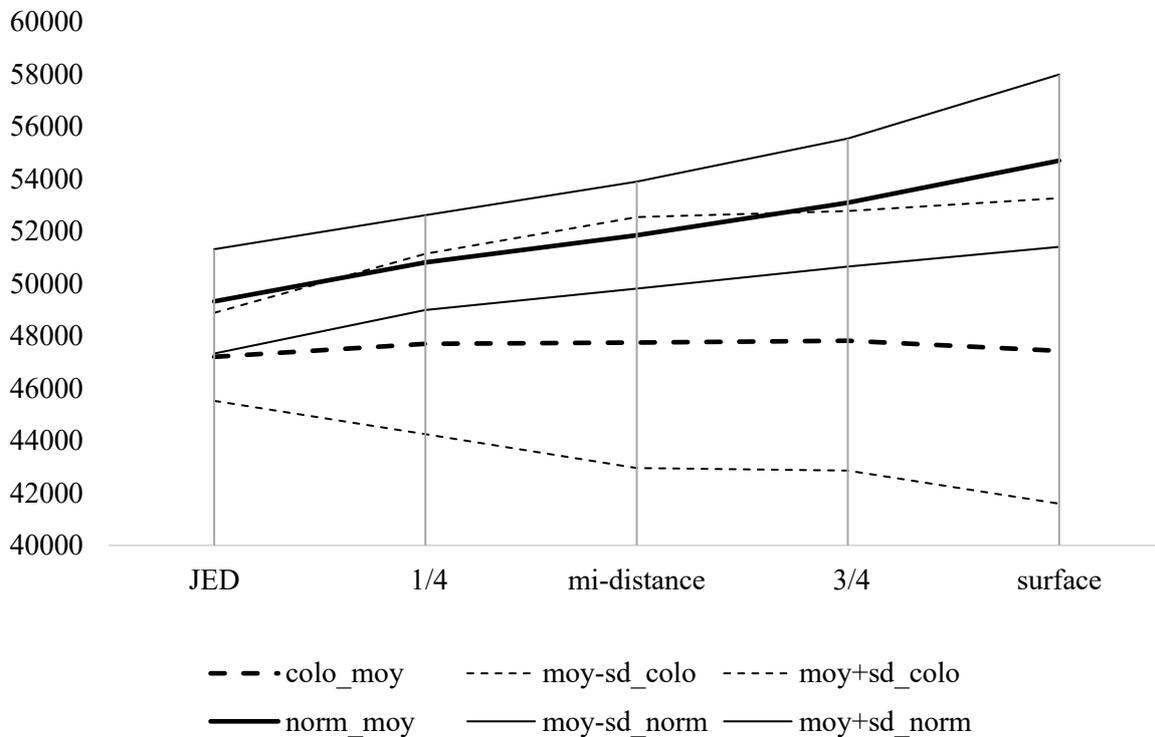


Figure 89. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en fonction des 5 cubes équidistants depuis la JED à la surface de l'émail dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) provenant de l'échantillon de dents colorées par taphonomie. Colo : colorée, norm : normale, JED : jonction émail-dentine, sd : écart-type.

## 6. Élaboration d'un guide de diagnostic

---

A partir des données issues de l'étude de l'émail hypominéralisé et de l'émail coloré par taphonomie (*confer* chapitres 5 §4 et 5), nous avons établi un guide de diagnostic qui permet de confirmer ou non le diagnostic de HMI dans les populations du passé à partir de moyens d'études non-destructifs. Nous avons précédemment montré que l'émail hypominéralisé présentait des taux de  $\beta$ -carbonates (A960/A1070) élevé et une densité minérale réduite par rapport à de l'émail sain. Les éléments chimiques contenus dans le sol d'enfouissement peuvent tacher les dents et constituer un biais taphonomique. Des analyses en fluorescence X de cet émail coloré ont permis de différencier des colorations dues à des HMI de celles dues à de la taphonomie.

Cette démarche diagnostique peut se décomposer en 3 étapes : l'acquisition des données, l'analyse statistique et le diagnostic final. Un guide préliminaire a été publié au cours de notre étude (*confer* chapitre 5 §6.4. ; Garot *et al.* (2017b)). Il a ensuite été complété grâce aux résultats des analyses en microtomographie des colorations taphonomiques. L'élaboration de ce guide se basait sur un article montrant qu'il n'y avait pas de différence significative de densité minérale dans le cas de colorations taphonomiques (McKay *et al.* 2013). Or, notre étude a montré qu'il pouvait y en avoir. Afin de les différencier des hypominéralisations de type HMI, nous avons ajouté l'analyse du profil de la DM depuis la JED jusqu'à la surface dans notre guide définitif (Figure 90). En effet, dans le cadre des HMI, la lésion part de la JED et se dirige vers la surface amélaire alors que dans le cas du processus taphonomique, l'attaque se développe à partir de la surface de la dent en direction de la JED (Figure 90). À titre de comparaison, nous avons également ajouté à cela le profil des densités minérales retrouvé dans le processus de déminéralisation carieuse pour des lésions non-cavitaires, c'est-à-dire de score ICDAS inférieur à 3 (Figure 90). Plus l'atteinte carieuse est importante plus la lésion progresse en profondeur en direction de la dentine cependant à des stades précoces (score 1 et 2 ICDAS) une couche de surface d'émail de DM comparable à l'émail sain subsiste (Huang *et al.* 2010, Hamba *et al.* 2012, Kucuk *et al.* 2016, Shahmoradi et Swain 2016).

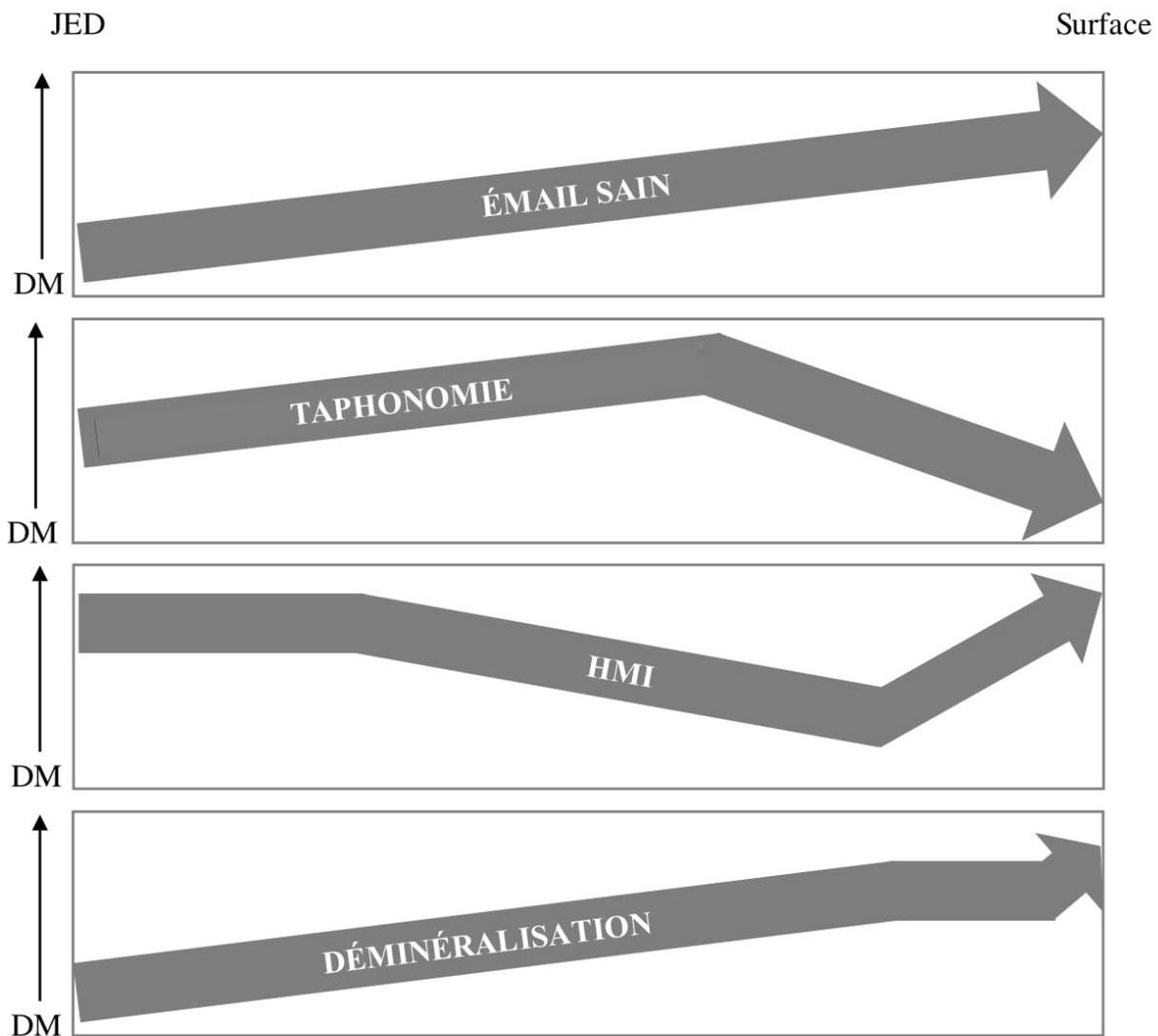


Figure 90. Schéma de synthèse de l'évolution des densités minérales (DM) de la jonction émail-dentine (JED) jusqu'à la surface de l'émail pour un émail sain, un émail coloré par taphonomie, un émail atteint par une HMI et une déminéralisation de l'émail d'origine carieuse (scores ICDAS 1 et 2).

## 6.1. Première étape : acquisition des données

Plusieurs mesures sont effectuées à la fois dans les zones colorée et saine à l'aide de la spectroscopie RAMAN et/ou de la microtomographie associées à une analyse élémentaire de la tache (par exemple à l'aide de la fluorescence X). En fonction de la technique utilisée, des mesures des taux de carbonates et de phosphates ou de la densité minérale dans les zones colorées et les zones saines sont effectuées à la même hauteur coronaire. La raison est que dans la denture permanente, l'émail occlusal bien plus épais que l'émail cervical est plus minéralisé (Theuns *et al.* 1983, Wilson et Beynon 1989). En  $\mu$ CT, afin de pouvoir comparer nos données, il est nécessaire d'effectuer au moins 3 mesures par zone (de la JED jusqu'à la surface amélaire

et à mi-distance entre ces 2 points). Les mesures en spectroscopie Raman et en fluorescence X (au minimum 3/zone) sont réalisées à la surface des dents au centre de la tache. Les mesures dans l'émail non affecté sont effectuées à la même hauteur coronaire que la tache.

## 6.2. Deuxième étape : analyses statistiques

Un test non-paramétrique pour échantillons appariés est effectué entre les données issues de la zone colorée et celles de la zone non affectée. Nous avons montré précédemment que dans le cas de certaines colorations taphonomiques, une différence significative de DM pouvait être observée. La différence majeure entre ces hypominéralisations et ces colorations taphonomiques réside dans le fait que l'hypominéralisation molaire-incisive est un défaut qui part de la JED et se rapproche de la surface, alors dans le cas des colorations taphonomiques la détérioration de l'émail débute en surface. Afin de différencier ces deux cas, le profil 3D de la DM est analysé. Nous pouvons considérer que si la DM en surface (cube 5) est supérieure à la DM aux trois quarts de l'émail (cube 4), il s'agit d'une hypominéralisation de l'émail (Figure 83). Le profil 3D de l'émail coloré par taphonomie se caractérise par une DM plus faible à la surface de l'émail (Figure 89).

Plusieurs réponses sont alors possibles en fonction des résultats des différents tests (Tableau 51).

Techniques d'analyse	Résultats	Diagnostic
Spectroscopie Raman	Augmentation significative du A1070 par rapport à l'émail sain	HMI
Microtomographie	Diminution significative de DM par rapport à l'émail sain et augmentation de DM à la surface de l'émail	HMI
Fluorescence X	Différence significative en Fe, Cu, Mn et Pb par rapport à l'émail sain	TPH

**Tableau 51.** Synthèse des différents diagnostics possibles en fonction des résultats issus des différentes techniques d'analyses (spectroscopie Raman, microtomographie et fluorescence X). TPH : taphonomie, DM : densité minérale.

### **6.3. Troisième étape : Diagnostic final**

Les résultats issus des différentes techniques d'analyses sont ensuite croisés. Quatre diagnostics sont finalement possibles :

- une coloration due uniquement à une hypominéralisation de l'émail,
- une coloration due uniquement à de la taphonomie,
- une coloration causée à la fois par des conditions taphonomiques et une hypominéralisation,
- aucun des processus cités précédemment ne peut expliquer cette coloration.

Il est important de tenir compte du fait que plus l'émail est hypominéralisé, plus il incorpore d'éléments chimiques. Dans le cas où ni un processus taphonomique ni une hypominéralisation sont à l'origine de la tache, on peut supposer qu'un autre type de défaut qualitatif de l'émail peut être le facteur causal (*confer* chapitre 2 §6).

### **6.4. Article "Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context" Garot E, Couture-Veschambre C, Manton D, Rodriguez V, Lefrais Y, Rouas P.**

État : Publié dans Archives of Oral Biology. 2017 Feb; 74:28-36. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2016.11.008.



## Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context



Elsa Garot<sup>a,b,\*</sup>, Christine Couture-Veschambre<sup>b</sup>, David Manton<sup>c</sup>, Vincent Rodriguez<sup>d</sup>, Yannick Lefrais<sup>e</sup>, Patrick Rouas<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Université de Bordeaux, UFR des Sciences Odontologiques, Bordeaux, France

<sup>b</sup> Université de Bordeaux, PACEA, UMR 5199, Pessac, France

<sup>c</sup> Melbourne Dental School, University of Melbourne, Victoria, Australia

<sup>d</sup> Université de Bordeaux, ISM, UMS 3626, Talence, France

<sup>e</sup> Université Bordeaux Montaigne, CRP2A, UMR 5060, Pessac, France

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 7 April 2016

Received in revised form 8 November 2016

Accepted 9 November 2016

#### Keywords:

Hypomineralisation

Enamel

Taphonomic

Stain

Characterisation

MIH

### ABSTRACT

**Objective:** Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) is a structural anomaly that affects the quality of tooth enamel and has important consequences for oral health. The developmentally hypomineralised enamel has normal thickness and can range in colour from white to yellow or brown with or without surface breakdown. The possibility of finding MIH in 'ancient populations' could downplay several current aetiological hypotheses (e.g., dioxin derivatives, bisphenols, antibiotics) without excluding the possible multifactorial aspect of the anomaly. In an archaeological context, chemical elements contained in the burial ground can stain teeth yellow or brown and therefore might create a taphonomic bias. The purpose of the present study is to test a proposed diagnostic guide enabling determination of the pathological or taphonomic cause of enamel discolouration and defects that resemble MIH present on 'ancient teeth'. **Design:** Two sample groups including MIH discoloration (n = 12 teeth) from living patients, taphonomic discoloration (n = 9 teeth) and unknown discoloration (n = 2 teeth) from medieval specimens were tested. Three non-destructive methods—Raman spectroscopy, X-ray micro-computed tomography and X-ray fluorescence were utilised.

**Results:** Hypomineralised enamel has decreased mineral density ( $p < 0.0001$ ) and increased phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio ( $p < 0.01$ ) compared to normal enamel whereas relative concentrations of manganese, copper, iron and lead are similar. In taphonomic discoloration, relative concentrations of these elements are significantly different ( $p < 0.05$ ) to normal enamel whereas mineral density and Raman spectra profile are comparable.

**Conclusions:** Enamel hypomineralisation can be distinguished from taphonomic staining in archaeological teeth.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

### 1. Introduction

Developmental defects of enamel (DDE) have been described for many decades (Bhussry, 1958; Kostlan & Plackova, 1962; Suckling, 1989). These enamel defects are simplistically classified as quantitative (hypoplasia) and qualitative defects (hypomineralisation). Hypomineralisation is defined as an abnormality in the mineral content and translucency of the enamel and also denominated as opacity of the enamel (Jalevik & Noren, 2000).

A specific pattern of developmental hypomineralisation of enamel on first permanent molars and often incisors was defined as *Molar Incisor Hypomineralisation* (MIH) in 2001 (Weerheijm, Jalevik, & Alaluusua, 2001). MIH is a demarcated qualitative defect of enamel of systemic origin, affecting one or more of the first permanent molars, often affecting the permanent incisors (Weerheijm et al., 2003). MIH is derived from an alteration in ameloblast function during the enamel maturation phase (Jalevik, Dietz, & Noren, 2005). Ameloblast metabolism related to MIH is thought to be more sensitive to change during the perinatal period (Fagrell, Salmon, Melin, & Noren, 2013). The affected teeth show clearly demarcated opacities of enamel of normal thickness with a smooth surface which can range from white to yellow or brown in colour

\* Corresponding author.

E-mail address: [elsa.garot@u-bordeaux.fr](mailto:elsa.garot@u-bordeaux.fr) (E. Garot).

(Weerheijm et al., 2003). Enamel of normal appearance in hypomineralised tooth has normal mineral density (Crombie et al., 2013).

Internationally, current MIH prevalence ranges between 3 and 44% with an average of 15%, which, considering its clinical, aesthetic and functional consequences, make it a major public health problem (Elfrink, Ghanim, Manton, & Weerheijm, 2015). The aetiological factors of MIH are not clear, however, it is likely to be multifactorial in origin involving child health (Crombie, Manton, & Kilpatrick, 2009). To date, few prospective studies addressing

multiple risk factors have been published (Fagrell, Ludvigsson, Ullbro, Lundin, & Koch, 2011; Kuhnisch, Mach et al., 2014). This lack of studies relates to the need for longitudinal and often expensive studies, and the potential for loss of follow-up of participants is great, increasing sample size and decreasing representativeness. The most current hypotheses relate to *peripartum* problems, childhood diseases, dioxins (through breastfeeding), antibiotics during the first years of life of the child and ingestion of bisphenol A (e.g., through baby bottles and food packaging). Some currently postulated risk factors are innovations of the past century (e.g.,



**Fig. 1.** (a) Taphonomic discoloration and wear on tooth 36 from (b) (Sains-en-Gohelle, France, 7–16th centuries), (b) Mandible and teeth with taphonomic discolorations (Sains-en-Gohelle, France, 7–16th centuries), (c) Wear on tooth 46 (Sains-en-Gohelle, France, 7–16th centuries), (d) White spot lesion stained by taphonomy on tooth 46 (Sains-en-Gohelle, France, 7–16th centuries), (e-f) Discolorations resembling demarcated hypomineralised lesion of enamel on tooth 46 (e) and 26 (f) (Sains-en-Gohelle, France, 7–16th centuries).

antibiotics, dioxins and bisphenol A). Thus, finding MIH in past populations would reduce the weight of hypotheses implicating such recently introduced factors. Genetic variation has been postulated to explain MIH (Jeremias et al., 2013, 2016; Kuhnisch, Thiering et al., 2014).

There are difficulties differentiating between taphonomic and MIH lesions; illustrated by a recent case where some discolorations on archaeological primary teeth initially classified as enamel hypomineralisation (on the basis of macroscopic appearance), were finally attributed to taphonomic discoloration after X-ray micro-computed tomography (XMCT) analysis of mineral density (McKay, Farah, Broadbent, Tayles, & Halcrow, 2013). Bone and tooth taphonomic discolorations are frequent among archaeological specimens. Teeth exposed to acidic burial environments tend to be brown in colour because transition-metal ions (such as iron and manganese) and humic acids are soluble in the local groundwater and constitute a taphonomic bias (Turner-Walker, 2007). Destructive analytical methods (i.e. atomic absorption spectrometry) showed an increased content of manganese in blackish stained enamel (Stermer, Risnes, & Fischer, 1996). It was concluded that manganese, probably in the form of an oxide deposited from the soil, was the cause of the dark staining. Recently, discolorations macroscopically similar to MIH on archaeological specimens were described (Curzon, Ogden, Williams-Ward, & Cleaton-Jones, 2015). Based on visual examination, a prevalence of 0.4% of teeth with demarcated opacities or enamel breakdown in an archaeological case series has been reported (Kuhnisch et al., 2016). The authors concluded that this MIH prevalence might be underestimated due to extensive tooth wear. Others authors reported 93.2% of MIH among a sample of 41 individuals (Ogden, Pinhasi, & White, 2008). The high prevalence was attributed by the authors to vitamin D

deficiency correlated with the high prevalence of rickets amongst specimens. We assumed that as hypoplasia is an indicator of health during childhood (Goodman & Rose, 1991; Hillson, 2014), enamel hypomineralisation prevalence in past populations could provide information on socioeconomic status, malnutrition or health status of a population. There are limited causes of tooth discoloration in archaeological specimens. Tooth wear and carious lesions are more common and easily identifiable in archaeological teeth, however, distinction between taphonomic stain and developmental hypomineralisation of enamel is difficult (Fig. 1). As reported by McKay et al., before concluding that MIH was present in past populations, it is necessary to discriminate between coloured demarcated lesions caused by pathological or taphonomic processes. In this paper, we propose a diagnostic guide (Fig. 2) to assist researchers identify hypomineralised enamel lesion in archaeological specimens, aiming to distinguish between hypomineralised lesions and taphonomic stain by means of non-destructive analyses.

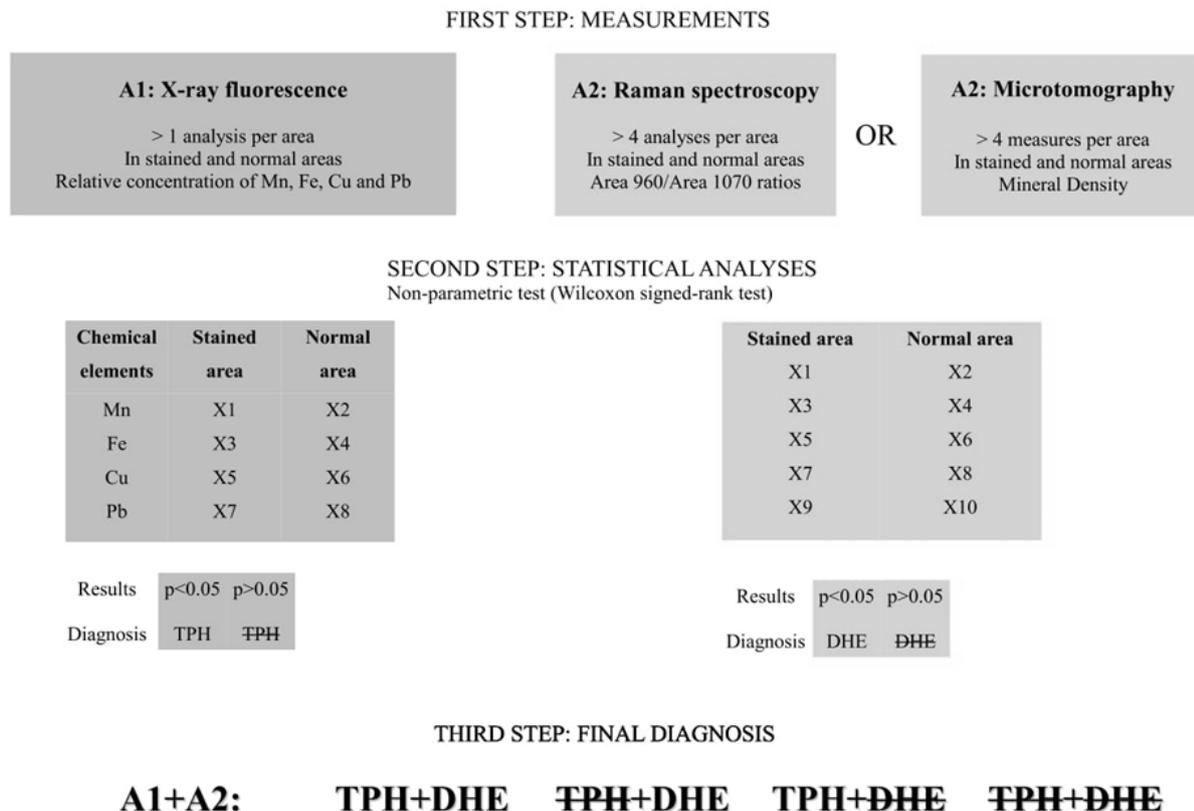
**2. Materials and methods**

*2.1. Ethical considerations*

The research protocol (DC-2015-2415) was registered at the “Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre Mer III” and the “Ministère de la recherche”. Data were anonymised.

*2.2. Study design*

Two comparative sample groups were included in the present study (Fig. 3). The first group was from recently extracted teeth



A1: Analysis 1, A2: Analysis 2, Xn: Data measured (Relative concentration or Area960/Area1070 ratio or Mineral density), TPH: taphonomy, DHE: developmental hypomineralisation of enamel

**Fig. 2.** Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stain and developmental hypomineralisation of enamel.

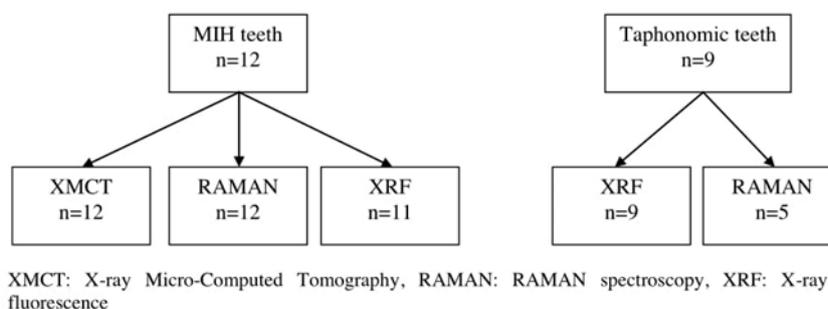


Fig. 3. Materials and methods studied.

collected from patients with MIH. The second group was from medieval individuals with teeth previously identified as stained by taphonomy. X-ray Micro-Computed Tomography (XMCT) and Raman spectroscopy were used to determine mineral density and molecular spectra. In order to determine if the taphonomic process could change enamel structure, similar analyses were performed on predetermined taphonomic staining from archaeological teeth. To determine the potential for chemical contamination by the burial soil, x-ray fluorescence analyses of taphonomically stained archaeological teeth was undertaken. Elemental constituents of hypomineralised lesions were also examined using x-ray fluorescence.

### 2.3. Tooth material

#### 2.3.1. Sample with developmental hypomineralisation of enamel

The tooth material consisted of a sample of 12 permanent first molars, collected from nine patients with a clinical diagnosis of MIH, extracted for clinical reasons at the Teaching Hospitals of Bordeaux. Diagnosis of MIH was made by one of two experienced paediatric dentists according to EAPD criteria (Weerheijm et al., 2003).

#### 2.3.2. Sample with taphonomic stain

Taphonomic stain was diagnosed when teeth and jawbones in a specific area of the individual were stained, and there were no visible structural anomalies of dental tissues (Fig. 1 a, b). The present sample consisted of nine teeth with taphonomic stains (one first premolar, five first permanent molars, two second permanent molars and one third permanent molar) from three individuals. These individuals come from two archaeological sites from the Middle Ages located at Jau Dignac and Loirac (Gironde, France; Laforest, Castex, Cartron, & Murail, 2012) and Sains-en-Gohelle (Nord, France; Beauval et al., 2012).

### 2.4. Analysis of specimens

All of the teeth were placed into deionised distilled water in an ultrasonic cleaner for 30 min at 40 °C for cleaning.

#### 2.4.1. X-ray micro-computed tomography (XMCT)

Methodology is described in a previous study (Garot et al., 2016). In summary, the samples were imaged using high resolution microtomography at the laboratory PLACAMAT (UMS 3626) in Bordeaux (Microtomograph X GE V/TOME/X S equipment, New York, USA). The scanning parameters were 120 kV, 147  $\mu$ A for the x-ray tube, exposure time 500 ms with four integrations per projection, 2550 projections/360° and 0.1 mm copper filter placed on the source in order to reduce beam hardening artefacts. The voxel size was  $7 \times 7 \times 7 \mu\text{m}^3$ . The final volume was reconstructed in 16-bit. In order to take measurements at the same coronal height,

images have been recompiled according to the plane of section through two points located at the cervix on the buccal surface and one point at the cervix on the lingual surface using software Avizo<sup>®</sup> 7.0.1 (FEI, OR, USA). As described in Garot et al. (2016) mineral densities in five slices including enamel defect were analysed using Plot Profile ImageJ<sup>®</sup> 1.45 software (NIH, Maryland, USA).

#### 2.4.2. Raman spectroscopy

Raman spectra were recorded at room temperature on a Raman Spectrometer "XploRA" (Horiba Jobin-Yvon, Japan) with a CW laser at 785 nm (near infrared) as a source to minimize fluorescence drawbacks. Confocal microscopy and motorized X and Y and manual Z stages allowed 3D investigation. The spectrometer includes a grating with 1200 grooves/mm and an air-cooled CCD. The laser power was 35 mW for all samples. Unpolarised Raman spectra were measured over the frequency range 200–1200  $\text{cm}^{-1}$  with a spectral resolution  $> 4.5 \text{ cm}^{-1}$ . For each sample, spectra were collected at a depth penetration of 10  $\mu\text{m}$  in stained and normal enamel at the same coronal height with a 50x objective (NA = 0.45). Each spectrum was a composite average of six spectra taken for 45 s each to achieve high signal-to-noise quality for all spectra. From LabSpec software (Horiba, Japan), a curve fitting was performed. After the deconvolution of peaks, areas of phosphate (960  $\text{cm}^{-1}$ ) and  $\beta$ -carbonate (1070  $\text{cm}^{-1}$ ) were extracted to calculate the area phosphate (960)/area  $\beta$ -carbonate (1070) ratio.

#### 2.4.3. X-Ray fluorescence

X-Ray fluorescence (equipment Seiko SEA 6000VX, Tokyo, Japan) was used with the following parameters: collimator (0.5  $\times$  0.5 mm), time measurement of 300 s and Rhodium anti-cathode. Two conditions of experiments were used: condition 1 (without filter and tube voltage: 15 kV) to determine relative concentrations of P and Ca, and condition 2 (filter for lead and tube voltage: 50 kV) to know relative concentrations of Sn, Mn, Cu, Zn, Fe, Pb and Sr. An area in normal enamel was located at the same coronal height as its homologous area in stained enamel. This process was repeated a second time. Thus, two measurements in two distinct areas were performed in stained and normal enamel on the tooth surface. Studies on stained teeth in an archaeological context noted that enamel showed patterns of trace elements reflecting the contents in soil and groundwater, although dentine, due to its increased porosity and organic content, may also stain considerably (Kohn, Schoeninger, & Barker, 1999; Mansilla, Solis, Chavez-Lomeli, & Gama, 2003; Poole & Tratman, 1978; Steadman, Brudevold, Smith, Gardner, & Little, 1959; Stermer, Risnes, & Fischer, 1996). The external surface of enamel contained higher concentrations of trace elements than in the full depth of enamel (Steadman, Brudevold, Smith, Gardner, & Little, 1959). In the present study, only elements that had increased concentrations in stained enamel were selected: Mn, Fe, Cu, Sr and Pb (Table 1). Then, Sr was excluded because there is little evidence that it can stain

**Table 1**  
Relative concentrations (weight percent, wt%) of major elements (P and Ca) and minor elements (Mn, Fe, Cu, Zn, Sn, Sr and Pb) for stained (ST) and normal (NO) enamel with 9 taphonomic teeth (TPH).

TPH (n=9)	P wt%	Ca wt%	Mn wt%	Fe wt%	Cu wt%	Zn wt%	Sn wt%	Sr wt%	Pb wt%	Ca/P
M (ST)	33.281	65.389	0.091	0.763	0.017	0.213	0.044	0.045	0.157	1.97
SD (ST)	0.715	0.790	0.090	0.401	0.011	0.061	0.005	0.006	0.099	0.07
M (NO)	33.903	65.576	0.029	0.143	0.006	0.256	0.040	0.029	0.019	1.94
SD (NO)	0.508	0.471	0.006	0.032	0.002	0.029	0.009	0.004	0.008	0.04

M—mean, SD—Standard deviation.

**Table 2**  
Comparison of mineral density between hypomineralised enamel (HE) and normal (NE).

Sample	n	Mineral density Mean GS (SD)		Difference	p value
		HE	NE		
MIH	12	38690 (734)	47151 (559)	18%	<0.0001*

GS—Grey Scale; SD—Standard Deviation.

\* Statistically significant; Wilcoxon test for paired samples;  $p < 0.05$ .

enamel. Oxides of Mn and Fe could stain enamel (Kohn, Schoeninger, & Barker, 1999). Other authors reported that Cu and Pb could also be increased in stained enamel (Brook, Smith, & Lath, 2007; Watts & Addy, 2001). The final list included for statistical analyses: Mn, Fe, Cu and Pb.

### 2.5. Statistical analysis

Non-parametric statistical tests (Wilcoxon test for paired samples) were carried out using Statistica® software Package Version 7.1 (Statsoft® Dell, OK, USA) to compare data from these two areas (stained/hypomineralised and normal).

## 3. Results

### 3.1. X-ray micro-computed tomography (XMCT)

Mineral density calculated for hypomineralised and normal areas from 12 MIH teeth are presented in Table 2. The relative grey

scale values were statistically significantly higher in normal enamel compared to hypomineralised enamel ( $p < 0.0001$ ). There was a mineral density reduction of 18% in hypomineralised enamel.

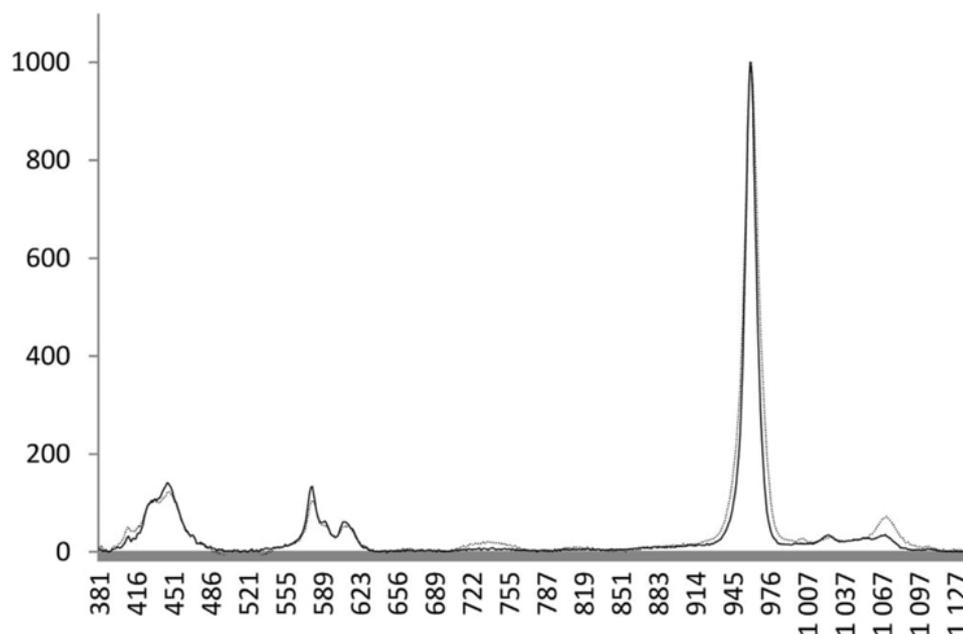
### 3.2. Raman spectroscopy

Raman spectra from a representative MIH tooth with normal and hypomineralised enamel are illustrated in Fig. 4. The intensity of the  $\beta$ -carbonate band at  $1070 \text{ cm}^{-1}$  was higher in hypomineralised enamel.

Area phosphate to area  $\beta$ -carbonate ratios (A960/A1070) calculated for hypomineralised and normal areas from 12 MIH teeth are presented in Table 3. Hypomineralised enamel ratios ( $m = 10.2 \pm 2.5$ ) are on average two times higher than the A960/A1070 ratios for normal enamel ( $m = 21.3 \pm 4.0$ ). The Wilcoxon test for paired samples determined that the difference between the mean A960/A1070 ratio of hypomineralised and normal enamel was statistically significant ( $p = 0.002$ ). On the other hand the taphonomic samples had similar A960/A1070 ratios between stained ( $m = 11.7 \pm 0.8$ ) and normal enamel ( $m = 13.9 \pm 1.2$ ).

### 3.3. X-Ray fluorescence

For each tooth stained by taphonomy and MIH, analyses were performed at two different points for each area of interest (normal and stained). Elemental (Mn, Fe, Cu and Pb) data are summarised in Table 4. With regards to the taphonomic samples, concentrations of Mn, Fe, Cu and Pb differed between normal and stained enamel. The variance for each elemental mean was high as all elements



**Fig. 4.** Raman spectra of a hypomineralised lesion (dotted line) and normal enamel (continuous line) from a MIH-affected tooth.

**Table 3**

Comparison of A960/A1070 ratio between normal and stained enamel of MIH and taphonomic discolorations (TPH).

Sample	n	A960/A1070 ratio		p value
		Stained enamel Mean (SD)	Normal enamel Mean (SD)	
MIH	12	10.2 (2.5)	21.3 (4.0)	0.002 <sup>*</sup>
TPH	5	11.7 (0.8)	13.9 (1.2)	0.08

A960/A1070 ratio = Area of phosphate (960 cm<sup>-1</sup>)/Area of β-Carbonate (1070 cm<sup>-1</sup>).

<sup>\*</sup> Statistically significant; Wilcoxon test for paired samples; p < 0.05.

were not present in all of the teeth; therefore, a statistical test was performed for the values from each tooth. For each tooth, a statistically significant difference for relative elemental concentrations was found between stained and normal enamel (Table 4). Concerning MIH teeth, no statistically significant difference was determined between all chemical elements at the tooth level (Table 4).

### 3.4. Diagnostic guide

With these results, we propose a diagnostic guide for identification of developmental hypomineralisation of enamel and taphonomic staining in archaeological populations (Fig. 2).

Different steps form this guide:

#### 3.4.1. First step: measurements

The first analysis is conducted by means of X-ray fluorescence. Two separate points should be placed in normal enamel and two other points in stained enamel at a minimum distance of 1 mm. This analysis determines the relative concentration of chemical elements (Ca, P, Sn, Mn, Cu, Zn, Fe, Pb, Sr) in stained and normal enamel on archaeological teeth.

The second analysis is conducted using either Raman spectroscopy or X-ray micro-computed tomography:

- With Raman spectroscopic analysis, measures are performed in stained and normal enamel and insofar as possible at the same coronal height. A minimum of three spectra per area are recorded at a minimum depth penetration of 10 μm (due to

fluorescence phenomenon in superficial layer). The A960/A1070 ratios are calculated.

- With microtomographic analyses, grey values used as a surrogate measure of mineral density are determined from a minimum of three horizontal slices through the centre of the stain. A minimum of three measures representing the average grey level in a square are calculated for each area.

#### 3.4.2. Second step: statistical analysis

A conservative non-parametric statistical test for paired samples should be used for data from stained and normal enamel (e.g., Wilcoxon signed-rank test).

With the first analysis (X-ray fluorescence), relative concentrations (Mn, Cu, Fe and Pb) in the normal and stained areas are compared. This selection of elements is based on a review of literature, but in some contexts, other elements may cause taphonomic staining. If the p value is < 0.05, the stain may have been caused by taphonomic factors.

According to the second analysis selected, differences of A960/A1070 ratios or mineral densities are tested for the normal and stained areas. If the p value is < 0.05, then the stain is likely to be pathologic in nature, such as MIH.

#### 3.4.3. Third step: final diagnosis

Previous results are combined, and four final diagnoses are possible (Fig. 2). Stains are caused by either Developmental Hypomineralisation of Enamel (DHE) and a taphonomic factor, only DHE, only a taphonomic factor or neither DHE nor a taphonomic factor.

The present study was performed using Raman spectroscopy and X-ray fluorescence on stains with similar appearance to DHE from two archaeological teeth presented in Fig. 1(e, f). Results in Table 5 comparing the discoloration and normal enamel in tooth 46 (Fig. 1e) showed a significant difference (p < 0.05) of chemical element concentration but similar A960/A1070 ratio (p = 0.35). On the contrary, it appeared that the stain in tooth 26 (Fig. 1f) was not taphonomic in nature (p = 0.3). A diagnosis of DHE was given (p = 0.03).

**Table 4**

Relative concentrations (weight percent, wt%) of Mn, Fe, Cu and Pb for stained (ST) and normal (NO) enamel in MIH lesions and taphonomic discolorations (TPH).

Sample	Chemical elements	Mn		Fe		Cu		Pb		p value
		ST	NO	ST	NO	ST	NO	ST	NO	
TPH (n = 9)	M (wt%)	0.120	0.027	0.805	0.148	0.017	0.006	0.157	0.018	<0.05 <sup>*</sup>
	SD (wt%)	0.135	0.007	0.459	0.05	0.016	0.002	0.130	0.010	
MIH (n = 11)	M (wt%)	0.048	0.022	0.023	0.035	0.016	0.007	0.005	0.003	>0.05
	SD (wt%)	0.034	0.005	0.014	0.040	0.015	0.004	0.002	0.001	

M—mean, SD—Standard deviation.

<sup>\*</sup> Statistically significant; Wilcoxon test for paired samples; p < 0.05.

**Table 5**

Relative concentrations (weight percent) of Mn, Fe, Cu and Pb (A1) and A960/A1070 ratio (A2) between stained (ST) and normal (NO) enamel in teeth 46 and 26 (Fig. e,f).

Teeth		Mn		Fe		Cu		Pb		A960/1070		A1 p value	A2 p value	Diagnostic
		ST	NO	ST	NO	ST	NO	ST	NO	ST	NO			
46	M	0.070	0.026	0.118	0.030	0.004	0.005	0.009	0.006	13.0	15.1	0.05 <sup>*</sup>	0.35	TPH
	SD	0.017	0.004	0.003	0.010	0.001	0.0002	0.001	0.0004	2.0	3.3			
26	M	0.063	0.023	0.092	0.049	0.004	0.004	0.005	0.008	5.4	16.8	0.12	0.03 <sup>*</sup>	DHE
	SD	0.031	0.001	0.019	0.002	0.001	0.001	0.0002	0.001	0.6	1.2			

M—mean, SD—Standard deviation; TPH—Taphonomic discoloration; DHE—Developmental Hypomineralisation of Enamel.

<sup>\*</sup> Statistically significant; Wilcoxon test for paired samples; p < 0.05.

#### 4. Discussion

Hypomineralised enamel has reduced mineral density (mean 19%; range 5 – 28%) (Crombie et al., 2013; Fagrell, 2011; Fagrell, Salmon, Melin, & Noren, 2013; Farah, Drummond, Swain, & Williams, 2010; Farah, Swain, Drummond, Cook, & Atieh, 2010; Fearn, Anderson, & Davis, 2004; Garot et al., 2016; Mahoney, Rohanizadeh, Ismail, Kilpatrick, & Swain, 2004). In the study reporting a 5% deficit only three teeth were analysed, so the data may not be representative (Mahoney, Rohanizadeh, Ismail, Kilpatrick, & Swain, 2004).

Raman spectroscopy can also be used to diagnose developmental hypomineralisation of enamel. A significant decrease in phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio determined by Raman spectroscopy was demonstrated in the present sample of 12 hypomineralised teeth. This decrease may be explained either by decreased levels of phosphate or elevated levels of carbonate, consistent with two studies published on the subject. In the first study, the authors attempted to discriminate hypomineralised enamel from normal enamel of five first permanent molars by means of spectroscopic methods (Taube, Marczewski, & Noren, 2015). Multi-spot Raman Fourier Transform Spectroscopy, Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy and X-ray diffraction were used. Only for the Raman spectroscopy was there a significant increase in  $\beta$ -carbonate and hydrocarbons in hypomineralised enamel. This increase may explain the decrease of phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio determined in the present study. Another study of three MIH teeth showed a significant difference between  $\beta$ -carbonate/phosphate (960) ratios of hypomineralised and normal enamel (Fraser, Natarajan, Clark, Drummond, & Gordon, 2015). Some researchers performing elemental analyses using techniques which have destructive preparation requirements (i.e. Secondary ion mass spectroscopy or X-ray microanalysis) for hypomineralised enamel showed an increase in carbon content (Fagrell, 2011; Fagrell, Dietz, Jalevik, & Noren, 2010; Jalevik, Odelius, Dietz, & Noren, 2001). The higher proportion of carbon in hypomineralised areas might indicate increased levels of organic material such as protein as well as persistent carbonate in the enamel (Crombie et al., 2013; Farah, Monk, Swain, & Drummond, 2010; Jalevik, Odelius, Dietz, & Noren, 2001; Mangum, Crombie, Kilpatrick, Mantou, & Hubbard, 2010). Importantly, for archaeological samples, the method is non-destructive. In the present study, comparing the data from archaeological samples, no chemical difference (phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio) was found between normal and taphonomic stain enamel in the same tooth. However a decrease in phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio between normal enamel was shown between current and archaeological teeth. This decrease could be explained by diagenetic parameters, including an increase in the carbonate content after burying of archaeological remains. Ion exchange between groundwater and hydroxyapatite molecules may occur at  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , and/or  $\text{OH}^-$  sites. Carbonate dissolves into groundwater through leaching from calcium-carbonate rich bedrock and decayed flora and is then incorporated into the hydroxyapatite matrix of enamel after burial. In this case the incorporation of carbonate groups may substitute for hydroxide (type A substitution) or phosphate (type B substitution) in the hydroxyapatite matrix (Greene, Tauch, Webb, & Amarasiriwardena, 2004). These changes may result from one or a combination of three mechanisms: exogenous carbonate incorporation, endogenous carbonate loss and endogenous carbonate reorganization (Sponheimer & Lee-Thorp, 1999).

Elemental analysis of archaeological tooth stain (e.g., using X-ray fluorescence) highlighted the elements contaminating the enamel surface (e.g., Mn, Cu, Pb, Fe). Manganese and iron do not occur freely in nature and their oxides are the chief sources; oxides of sedimentary and residual origin are the most important deposits

(Read, 1970). It should be specified that high SD values were recorded for each elements due to the intra-tooth variability in elemental constituents. Therefore the use of a statistical test for paired samples was necessary; ensuring measurements performed at the same coronal height were only compared together. These results should be interpreted with caution due to the relatively small sample size and that there is a need for further research in the area. It is important to consider that more elements are incorporated into hypomineralised enamel, putatively due to increased porosity and more soluble mineral content. In the event that neither a taphonomic process nor enamel hypomineralisation are the origin of the stain, we may suppose that another type of qualitative defect of the enamel may be the causative factor. The mildest form of dental fluorosis appears as diffuse opaque milky-white striae or patches in the enamel, while high fluoride intake result in a yellowish-brown stain (Frohlich & Littleton, 1989). However, these defects can be macroscopically distinguished from MIH as the stains are diffuse, symmetrical and involve several teeth developing at that time (Denis, Atlan, Vennat, Tirlet, & Attal, 2013). Histopathological data show that teeth affected by dental fluorosis have a relatively hypermineralised surface layer and subsurface hypomineralisation (Fejerskov, Larsen, Richards, & Baelum, 1994). Contrary to MIH-like hypomineralised enamel, a decrease in carbonate concentration was determined by mean of Raman spectroscopy (Zavala-Alonso et al., 2012). Another pathology can be cited. Amelogenesis Imperfecta (AI) is a rare genetic disorder and in certain forms may be characterised by hypocalcified or hypomature enamel, however, much of the coronal enamel of all teeth (primary and permanent) is affected (Crawford, Aldred, & Bloch-Zupan, 2007). In contrast, MIH is characterised by demarcated opacities on the first permanent molars often affecting incisors (Weerheijm et al., 2003), which enables the distinction between MIH and AI in current populations. However, in the case where the only dental remains from an individual are first permanent molars, it may be difficult to make a distinction in structure between MIH and AI. Both MIH and the hypocalcified form of AI enamel show decreased mineralisation (Wright, Duggal, Robinson, Kirkham, & Shore, 1993). Similarly, an increase of carbonate content has been determined in MIH and AI enamel (Sa et al., 2014; Shore et al., 2002). In contrast, Wright et al. (1993) reported similar carbonate content in AI and normal enamel (Wright, Duggal, Robinson, Kirkham, & Shore, 1993). No clear consensus on this issue has been established; however, a typical phenomenon of MIH is that the cervical third of the tooth is not affected (Jalevik & Noren, 2000; Preusser, Ferring, Wleklinski, & Wetzel, 2007). Based on localisation of the hypomineralised lesions, AI and MIH can be discriminated.

Other taphonomic processes may cause enamel demineralisation. The term corrosion is defined as surface modifications arising out of chemical attack due to either biological or geochemical action (Fernández-Jalvo & Andrews, 2016). Penetration of corrosion below the surface is often superficial (Fernández-Jalvo et al., 2010). In conditions of high acidity, penetration is deeper, producing a lattice work of pits passing into the interior (Fernández-Jalvo & Andrews, 2016) and is distinguishable from MIH. Because of the lack of literature on change induced in mineral density and chemical structure by acid attack, we hypothesise that it could be compared to carious demineralisation induced by acidic pH of the oral biofilm. The demineralisation starts at the enamel subsurface (Wang, Zheng, Hsu, & Huang, 2016) and could be excluded by a measurement in the full thickness of enamel by means of microCT analyses. Authors showed that after erosive challenges (gastric juice and orange juice), A1070/A960 ratios in enamel determined by Raman spectroscopy did not statistically differ (Braga, De Faria, De Oliveira, & Sobral, 2011). XMCT analyses, not Raman spectroscopy, should be preferred to distinguish

enamel hypomineralisation to demineralisation (e.g., corrosion) as measurement are performed in the body of the lesion.

Further studies with varied and large samples are required to deal with this issue. A reliable diagnosis is necessary to provide valuable information about the causative factors responsible for MIH. Nowadays, no prevention of these factors is possible. Only prevention and treatment of MIH consequences can be carried out.

## 5. Conclusions

The comparison of measurements performed i) at the same coronal height ii) in stained and normal enamel iii) by means of X-ray fluorescence iv) and microcomputed tomography and/or Raman spectroscopy can distinguish MIH and taphonomic enamel discolouration. Hypomineralised enamel has decreased mineral density and increased phosphate/ $\beta$ -carbonate ratio compared to normal enamel. X-ray fluorescence can be used to determine enamel elemental profile differences comparing relative concentrations of Mn, Fe, Cu and Pb in taphonomic discoloration.

## Conflict of interests

No conflict of interests.

## Funding

Work supported by Institut Français pour la Recherche en Odontologie (IFRO).

## Acknowledgements

This work was supported by the Institut Français pour la Recherche Odontologique. Thanks are due to Gauthier Devilder for his help with the illustration and Frederic Santos for statistic. Dominique Castex, Cédric Beauval and Patrice Courtaud were grateful acknowledge for access to medieval dental specimens.

## References

- Beauval, C., Alonso, L., Brunet, M., Cabart, H., Chenal, F., Crépeau, N., et al. (2012). Rapport d'opération de fouilles archéologiques Sains-en-Gohelle.
- Bhussry, B. R. (1958). Chemical and physical studies of enamel from human teeth. III. Specific gravity, nitrogen content, and histologic characteristics of opaque white enamel. *Journal of Dental Research*, 37(6), 1054–1059.
- Braga, S. R., De Faria, D. L., De Oliveira, E., & Sobral, M. A. (2011). Morphological and mineral analysis of dental enamel after erosive challenge in gastric juice and orange juice. *Microscopy Research and Technique*, 74(12), 1083–1087.
- Brook, A. H., Smith, R. N., & Lath, D. J. (2007). The clinical measurement of tooth colour and stain. *International Dental Journal*, 57(5), 324–330.
- Crawford, P. J., Aldred, M., & Bloch-Zupan, A. (2007). Amelogenesis imperfecta. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 2, 17.
- Crombie, F., Manton, D., & Kilpatrick, N. (2009). Aetiology of molar-incisor hypomineralization: A critical review. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 19(2), 73–83.
- Crombie, F. A., Manton, D. J., Palamara, J. E., Zaluzniak, I., Cochrane, N. J., & Reynolds, E. C. (2013). Characterisation of developmentally hypomineralised human enamel. *Journal of Dentistry*, 41(7), 611–618.
- Curzon, M. E., Ogden, A. R., Williams-Ward, M., & Cleaton-Jones, P. E. (2015). Case report: A medieval case of molar-incisor-hypomineralisation. *British Dental Journal*, 219(12), 583–587.
- Denis, M., Atlan, A., Vennat, E., Tirtel, G., & Attal, J. P. (2013). White defects on enamel: diagnosis and anatomopathology: Two essential factors for proper treatment (part 1). *International Orthodontics*, 11(2), 139–165.
- Elfrink, M. E. C., Ghanim, A., Manton, D. J., & Weerheijm, K. L. (2015). Standardised studies on molar incisor hypomineralisation (MIH) and hypomineralised second primary molars (HSPM): A need. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 16(3), 247–255.
- Fagrell, T. G., Dietz, W., Jalevik, B., & Noren, J. G. (2010). Chemical, mechanical and morphological properties of hypomineralized enamel of permanent first molars. *Acta Odontologica Scandinavica*, 68(4), 215–222.
- Fagrell, T. G., Ludvigsson, J., Ullbro, C., Lundin, S. A., & Koch, G. (2011). Aetiology of severe demarcated enamel opacities—An evaluation based on prospective medical and social data from 17,000 children. *Swedish Dental Journal*, 35(2), 57–67.
- Fagrell, T. G., Salmon, P., Melin, L., & Noren, J. G. (2013). Onset of molar incisor hypomineralization (MIH). *Swedish Dental Journal*, 37(2), 61–70.
- Fagrell, T. (2011). Molar incisor hypomineralization. Morphological and chemical aspects, onset and possible etiological factors. *Swedish Dental Journal*, 216(Suppl. 5), 11–83.
- Farah, R., Drummond, B., Swain, M., & Williams, S. (2010). Linking the clinical presentation of molar-incisor hypomineralisation to its mineral density. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 20(5), 353–360.
- Farah, R. A., Monk, B. C., Swain, M. V., & Drummond, B. K. (2010). Protein content of molar-incisor hypomineralisation enamel. *Journal of Dentistry*, 38(7), 591–596.
- Farah, R. A., Swain, M. V., Drummond, B. K., Cook, R., & Atieh, M. (2010). Mineral density of hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry*, 38(1), 50–58.
- Fearne, J., Anderson, P., & Davis, G. R. (2004). 3D X-ray microscopic study of the extent of variations in enamel density in first permanent molars with idiopathic enamel hypomineralisation. *British Dental Journal*, 196(10), 634–638 [discussion 625].
- Fejerskov, O., Larsen, M. J., Richards, A., & Baelum, V. (1994). Dental tissue effects of fluoride. *Advances in Dental Research*, 8(1), 15–31.
- Fernández-Jalvo, Y., & Andrews, P. (2016). Corrosion and Digestion. In Y. Fernández-Jalvo, & P. Andrews (Eds.), *Atlas of taphonomic identifications: 1001+ images of fossil and recent mammal bone modification* (pp. 235–280). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Fernández-Jalvo, Y., Andrews, P., Pesquero, D., Smith, C., Marín-Monfort, D., Sánchez, B., et al. (2010). Early bone diagenesis in temperate environments: Part I: Surface features and histology. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 288(1–4), 62–81.
- Fraser, S. J., Natarajan, A. K., Clark, A. S. S., Drummond, B. K., & Gordon, K. C. (2015). A Raman spectroscopic study of teeth affected with molar-incisor hypomineralisation. *Journal of Raman Spectroscopy*, 46(2), 202–210.
- Frohlich, B., & Littleton, J. (1989). An analysis of dental pathology and diet on historic Bahrain. *Paléorient*, 15(2), 59–75.
- Garot, E., Rouas, P., d'Incau, E., Lenoir, N., Manton, D., & Couture, C. (2016). Mineral density of hypomineralised and sound enamel. *Bulletin du Groupement International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie & Odontologie*, 53(1), 26–29.
- Goodman, A. H., & Rose, J. C. (1991). Dental enamel hypoplasias as indicators of nutritional status. In M. Kelley, & C. Larsen (Eds.), *Advances in dental anthropology* (pp. 279–293). New York: Wiley-Liss.
- Greene, E. F., Tauch, S., Webb, E., & Amarasiriwardena, D. (2004). Application of diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) for the identification of potential diagenesis and crystallinity changes in teeth. *Microchemical Journal*, 76(1–2), 141–149.
- Hillson, S. (2014). Health, stress and evolution: case studies in bioarchaeology and palaeoanthropology. *Tooth development in human evolution and bioarchaeology*. Cambridge: Cambridge University Press 198–227.
- Jalevik, B., & Noren, J. G. (2000). Enamel hypomineralization of permanent first molars: A morphological study and survey of possible aetiological factors. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 10(4), 278–289.
- Jalevik, B., Odelius, H., Dietz, W., & Noren, J. (2001). Secondary ion mass spectrometry and X-ray microanalysis of hypomineralized enamel in human permanent first molars. *Archives of Oral Biology*, 46(3), 239–247.
- Jalevik, B., Dietz, W., & Noren, J. G. (2005). Scanning electron micrograph analysis of hypomineralized enamel in permanent first molars. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 15(4), 233–240.
- Jeremias, F., Koruyucu, M., Kuchler, E. C., Bayram, M., Tuna, E. B., Deeley, K., et al. (2013). Genes expressed in dental enamel development are associated with molar-incisor hypomineralization. *Archives of Oral Biology*, 58(10), 1434–1442.
- Jeremias, F., Pierri, R. A., Souza, J. F., Fragelli, C. M., Restrepo, M., Finotti, L. S., et al. (2016). Family-based genetic association for molar-incisor hypomineralization. *Caries Research*, 50(3), 310–318.
- Kohn, M. J., Schoeninger, M. J., & Barker, W. W. (1999). Altered states: effects of diagenesis on fossil tooth chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 63(18), 2737–2747.
- Kostlan, J., & Plackova, A. (1962). The histological investigation of the developmental hypomineralized areas of the enamel and their comparison with the carious lesion. *Archives of Oral Biology*, 7, 317–326.
- Kuhnisch, J., Lauenstein, A., Pitchika, V., McGlynn, G., Staskiewicz, A., Hickel, R., et al. (2016). Was molar incisor hypomineralisation (MIH) present in archaeological case series? *Clinical Oral Investigations* 1–7.
- Kuhnisch, J., Mach, D., Thiering, E., Brockow, I., Hoffmann, U., Neumann, C., et al. (2014). Respiratory diseases are associated with molar-incisor hypomineralizations. *Swiss Dental Journal*, 124(3), 286–293.
- Kuhnisch, J., Thiering, E., Heitmüller, D., Tiesler, C. M., Grallert, H., Heinrich-Weltzien, R., et al. (2014). Genome-wide association study (GWAS) for molar-incisor hypomineralization (MIH). *Clinical Oral Investigations*, 18(2), 677–682.
- Laforet, C., Castex, D., Cartron, I., & Murail, P. (2012). Microévolution d'une population historique sur les rives de l'estuaire de la Gironde. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 24(1–2), 12–24.
- Mahoney, E. K., Rohanizadeh, R., Ismail, F. S., Kilpatrick, N. M., & Swain, M. V. (2004). Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials*, 25(20), 5091–5100.
- Mangum, J. E., Crombie, F. A., Kilpatrick, N., Manton, D. J., & Hubbard, M. J. (2010). Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *Journal of Dental Research*, 89(10), 1160–1165.

- Mansilla, J., Solis, C., Chavez-Lomeli, M. E., & Gama, J. E. (2003). Analysis of colored teeth from Precolumbian Tlatelolco: postmortem transformation or intravital processes? *American Journal of Physical Anthropology*, *120*(1), 73–82.
- McKay, S., Farah, R., Broadbent, J. M., Tayles, N., & Halcrow, S. E. (2013). Is it health or the burial environment: differentiating between hypomineralised and post-mortem stained enamel in an archaeological context. *PLoS One*, *8*(5), e64573.
- Ogden, A. R., Pinhasi, R., & White, W. J. (2008). Nothing new under the heavens: MIH in the past? *European Archives of Paediatric Dentistry*, *9*(4), 166–171.
- Poole, D. F. G., & Tratman, E. K. (1978). Post-mortem changes in human teeth from late upper Palaeolithic/Mesolithic occupants of an English limestone cave. *Archives of Oral Biology*, *23*(12), 1115–1120.
- Preusser, S. E., Ferring, V., Wleklinski, C., & Wetzel, W. E. (2007). Prevalence and severity of molar incisor hypomineralization in a region of Germany—A brief communication. *Journal of Public Health Dentistry*, *67*(3), 148–150.
- Read, H. H. (1970). Manganese. In H. H. Read (Ed.), *Rutley's elements of mineralogy* (pp. 503–510). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Sa, Y., Liang, S., Ma, X., Lu, S., Wang, Z., Jiang, T., et al. (2014). Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturated enamel. *Acta Biomaterialia*, *10*(12), 5169–5177.
- Shore, R. C., Backman, B., Brookes, S. J., Kirkham, J., Wood, S. R., & Robinson, C. (2002). Inheritance pattern and elemental composition of enamel affected by hypomaturated amelogenesis imperfecta. *Connective Tissue Research*, *43*(2–3), 466–471.
- Sponheimer, M., & Lee-Thorp, J. A. (1999). Alteration of Enamel Carbonate Environments during Fossilization. *Journal of Archaeological Science*, *26*(2), 143–150.
- Steadman, L. T., Brudevold, F., Smith, F. A., Gardner, D. E., & Little, M. F. (1959). Trace elements in ancient Indian teeth. *Journal of Dental Research*, *38*(2), 285–292.
- Stermer, E. M., Risnes, S., & Fischer, P. M. (1996). Trace element analysis of blackish staining on the crowns of human archaeological teeth. *European Journal of Oral Sciences*, *104*(3), 253–261.
- Suckling, G. W. (1989). Developmental defects of enamel—historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Advances in Dental Research*, *3*(2), 87–94.
- Taube, F., Marczewski, M., & Noren, J. G. (2015). Deviations of inorganic and organic carbon content in hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry*, *43*(2), 269–278.
- Turner-Walker, G. (2007). The chemical and microbial degradation of bones and teeth. *Advances in human palaeopathology*. John Wiley & Sons, Ltd. 11–15.
- Wang, Z., Zheng, W., Hsu, S. C.-Y., & Huang, Z. (2016). Optical diagnosis and characterization of dental caries with polarization-resolved hyperspectral stimulated Raman scattering microscopy. *Biomedical Optics Express*, *7*(4), 1284–1293.
- Watts, A., & Addy, M. (2001). Tooth discolouration and staining: A review of the literature. *British Dental Journal*, *190*(6), 309–316.
- Weerheijm, K. L., Jalevik, B., & Alaluusua, S. (2001). Molar-incisor hypomineralisation. *Caries Research*, *35*(5), 390–391.
- Weerheijm, K. L., Duggal, M., Mejare, I., Papagiannoulis, L., Koch, G., Martens, L. C., et al. (2003). Judgement criteria for molar incisor hypomineralisation (MIH) in epidemiologic studies: A summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *European Journal of Paediatric Dentistry*, *4*(3), 110–113.
- Wright, J. T., Duggal, M. S., Robinson, C., Kirkham, J., & Shore, R. (1993). The mineral composition and enamel ultrastructure of hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology*, *13*(2), 117–126.
- Zavala-Alonso, V., Loyola-Rodriguez, J. P., Terrones, H., Patino-Marin, N., Martinez-Castanon, G. A., & Anusavice, K. (2012). Analysis of the molecular structure of human enamel with fluorosis using micro-Raman spectroscopy. *Journal of Oral Science*, *54*(1), 93–98.

## 7. Applications du guide de diagnostic à un échantillon archéologique

---

Afin de déterminer la fréquence des colorations taphonomiques et des HMI dans des populations archéologiques, nous avons appliqué ce guide diagnostique à un échantillon de dents archéologiques présentant des colorations. Ce dernier comprend majoritairement des premières molaires permanentes. Des secondes molaires déciduales d'individus présentant des colorations sur au moins une première molaire permanente ont également été incluses afin de découvrir ou non l'éventuelle présence de HSPM (*Hypomineralisation on Second Primary Molar* ; *confer* chapitre 2 §2.2.3.). Une incisive centrale supérieure et une deuxième molaire permanentes ont également été analysées.

### 7.1. Données issues de la XRF

Une sélection de 44 dents ont été analysées en fluorescence X. Parmi cet échantillon, la couleur (blanche, beige ou jaune-brune) et le type d'opacité (délimitée ou diffuse) sont également enregistrés (Tableau 52). L'échantillon est composé de dents issues des séries archéologiques de Sains-en-Gohelle (n=36), Beauvais (n=6) et Cognac Saint-Martin (n=2).

Parmi les 44 opacités, 33 (75%) sont délimitées et 11 sont diffuses. Nous comptabilisons également 32 opacités jaune-brunes (73%), 11 opacités beiges (25%) et une opacité à la fois beige et jaune-brune.

Un test de Wilcoxon (test non-paramétrique pour échantillons appariés) est réalisé entre les concentrations relatives en Fe, Mn, Cu et Pb des zones colorées et des zones non-colorées (Tableau 52). Dans notre échantillon, 18 dents montrent des différences significatives ( $p < 0,05$ ) entre l'émail coloré et l'émail non coloré (Tableau 52). Parmi ces différences significatives, 15/18 (83%) sont issues d'opacités délimitées, ce qui est nettement supérieur aux 75% observés dans l'effectif global. Parmi les résultats non significatifs, 18/26 (69%) sont attribués à des opacités délimitées. Parmi le pool de dents (n=18) pour lesquelles une différence significative est observée, 13 dents ont des opacités jaune-brunes, soit 72%, ce qui se rapproche des 75% d'opacités jaune-brunes de l'effectif global.

Spécimens	Op.	C	p-valeur	Spécimens	Op.	C	p-valeur
Bea_137_46	de	jb	<b>0,0001*</b>	SeG_385_46	de	be	0,09
CO_531_46	de	be	<b>0,012*</b>	Bea_121_46	de	jb	0,12
SeG_228_46	de	be	<b>0,012*</b>	Bea_137_16	de	jb	0,12
SeG_323_65	de	jb	<b>0,012*</b>	SeG_1217_16	di	jb	0,12
SeG_555_36	de	jb	<b>0,012*</b>	SeG_407_26	de	jb	0,12
SeG_971_46	de	jb	<b>0,012*</b>	SeG_1261_46	de	jb	0,14
SeG_547_36	di	jb	<b>0,017*</b>	Bea_335_16	de	jb	0,18
SeG_555_46	de	jb	<b>0,017*</b>	SeG_294_26	di	be-jb	0,21
SeG_191_16	de	jb	<b>0,021*</b>	SeG_323_26	di	jb	0,21
SeG_1177_36	di	jb	<b>0,025*</b>	SeG_300_26	di	jb	0,26
SeG_1217_26	di	jb	<b>0,025*</b>	SeG_577_16	de	jb	0,26
Bea_335_46	de	jb	<b>0,025*</b>	Bea_121_36	de	jb	0,33
SeG_627_16	de	be	<b>0,028*</b>	SeG_294_16	di	be	0,4
SeG_526_16	de	be	<b>0,034*</b>	SeG_323_11	de	be	0,4
SeG_53_26	de	jb	<b>0,036*</b>	SeG_385_36	di	jb	0,4
SeG_555_16	de	jb	<b>0,036*</b>	SeG_191_36	de	jb	0,48
SeG_985_46	de	be	<b>0,036*</b>	SeG_155_26	de	jb	0,58
SeG_323_75	de	jb	<b>0,038*</b>	SeG_155_16	de	be	0,78
SeG_323_55	de	jb	0,05	SeG_155_36	de	jb	0,78
SeG_323_85	de	jb	0,07	SeG_300_46	de	jb	0,89
SeG_526_26	de	be	0,07	SeG_1217_36	di	jb	1
CO_518_47	de	be	0,09	SeG_42_26	di	jb	1

Tableau 52. Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les concentrations relatives en Mn, Cu, Fe et Pb entre l'émail normal et l'émail coloré. Op. : opacité, C : couleur, di : diffuse, de : délimité, be : beige, jb : jaune-brune, \* statistiquement significatif  $p < 0,05$ .

## 7.2. Données issues de la spectroscopie RAMAN

Parmi les 24 dents sélectionnées pour une étude en spectroscopie Raman, 19 (79%) ont des opacités délimitées et 16 (67%) ont des opacités jaune-brunes.

Le test de Wilcoxon met en évidence 9 dents présentant des différences significatives dans le ratio A960/A1070 entre les zones colorée et non colorée (Tableau 53). Au sein de cet effectif de dents montrant des différences significatives, toutes les opacités sont délimitées et 5 (56%) sont de couleur jaune-brune.

Spécimens	Op.	C	p-valeur	Spécimens	Op.	C	p-valeur
SeG_407_26	de	jb	<b>0,028*</b>	SeG_526_26	de	be	0,25
SeG_323_11	de	be	<b>0,028*</b>	SeG_42_26	di	jb	0,25
SeG_526_16	de	be	<b>0,028*</b>	CO_518_47	de	be	0,25
SeG_971_46	de	jb	<b>0,028*</b>	SeG_300_46	de	jb	0,46
SeG_323_85	de	jb	<b>0,028*</b>	SeG_323_26	di	jb	0,6
SeG_385_46	de	be	<b>0,028*</b>	SeG_323_75	de	jb	0,6
SeG_526_16	de	be	<b>0,028*</b>	SeG_555_36	de	jb	0,6
Bea_335_16	de	jb	<b>0,046*</b>	SeG_1177_36	di	jb	0,75
SeG_323_55	de	jb	<b>0,046*</b>	SeG_323_65	de	jb	0,75
SeG_53_26	de	jb	0,08	SeG_1177_16	di	jb	0,75
SeG_627_16	de	be	0,17	Bea_121_46	de	jb	0,92
SeG_526_36	de	be	0,17	SeG_300_26	di	jb	0,92

Tableau 53. Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés comparant les ratios A960/A1070 entre l'émail normal et l'émail coloré. n : nombre, ratio A960/A1070=Aire de phosphate (960 cm<sup>-1</sup>) / Aire de β-Carbonate (1070 cm<sup>-1</sup>), Op. : opacité, C : couleur, di : diffuse, de : délimitée, be : beige, jb : jaune-brune, \* : statistiquement significatif p<0,05.

### 7.3. Données issues de la microtomographie

#### 7.3.1. Données en 2D

Sur les 24 dents testées, 18 (75%) sont des opacités délimitées et 21 (87,5%) sont de couleur jaune-brune (Tableau 54). Suite à la réalisation du test de Wilcoxon, 14 dents présentent des différences significatives de DM entre une zone colorée et une zone non colorée (Tableau 54). Parmi ces 14 dents, 10 (71%) ont des opacités délimitées et 10 opacités (71%) sont de couleur jaune-brune.

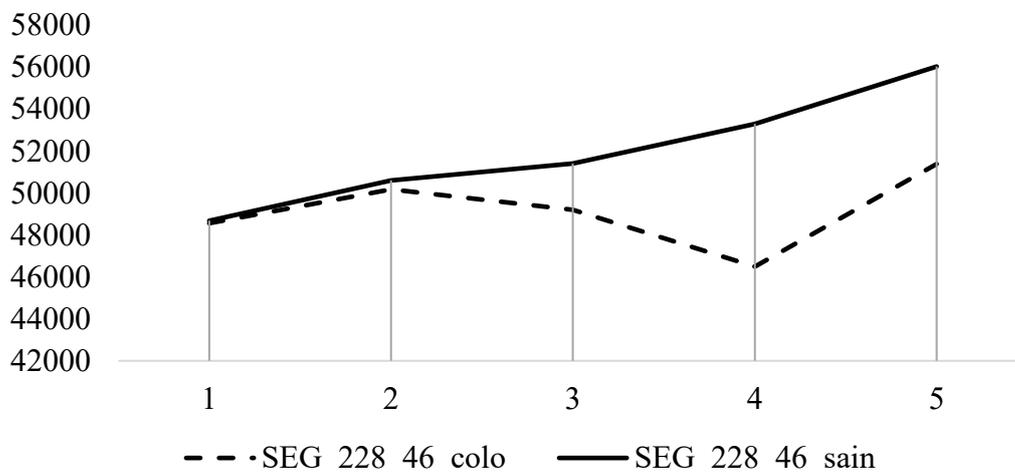
Spécimens	Op.	C	p-valeur	Spécimens	Op.	C	p-valeur
SeG_228_46	de	be	<b>0,0002*</b>	SeG_323_55	de	jb	<b>0,037*</b>
SeG_191_16	de	jb	<b>0,0003*</b>	SeG_1177_36	di	jb	<b>0,037*</b>
SeG_323_75	de	jb	<b>0,001*</b>	SeG_300_46	de	jb	0,09
SeG_300_26	di	jb	<b>0,002*</b>	SeG_323_11	de	be	0,13
SeG_407_26	de	jb	<b>0,002*</b>	SeG_42_26	di	jb	0,14
SeG_323_65	de	jb	<b>0,003*</b>	SeG_555_36	de	jb	0,15
SeG_385_46	de	be	<b>0,003*</b>	Bea_121_36	de	jb	0,31
SeG_323_85	de	jb	<b>0,003*</b>	SeG_53_26	de	jb	0,50
SeG_1261_46	de	jb	<b>0,005*</b>	SeG_385_36	di	jb	0,63
SeG_323_26	di	jb	<b>0,005*</b>	SeG_547_36	di	jb	0,65
Bea_335_46	de	jb	<b>0,006*</b>	Bea_335_16	de	jb	0,71
Bea_137_16	de	jb	<b>0,02*</b>	SeG_577_16	de	jb	0,85

Tableau 54. Tests de Wilcoxon pour échantillons appariés réalisés entre les densités minérales des zones colorées et saines au sein d'une même dent. \* p<0,05.

### 7.3.2. Données en 3D

Afin de différencier une diminution de la DM due à de la taphonomie de celle due à une hypominéralisation, les profils 3D des dents présentant des différences significatives de DM en 2D ont été représentés. Deux profils ont également été ajoutés car les résultats de la spectroscopie Raman ont mis en évidence une HMI mais celle-ci n'est pas confirmée par le test comparant les DM (Bea\_335\_16 et SeG\_323\_11). L'objectif est d'évaluer si la DM moyenne de la surface de l'émail (cube 5) est supérieure à la DM moyenne dans les 3/4 interne de l'émail (cube 4). Dans l'affirmative, il s'agira du profil caractéristique d'une hypominéralisation de l'émail illustré sur la Figure 83.

Le premier profil 3D (Figure 91) concerne la dent n°46 du spécimen SeG\_228 qui présente une coloration délimitée de couleur beige. La DM de l'émail coloré diminue du quart interne (cube n°2) jusqu'au quart externe de l'émail (cube n°4) ensuite la DM va augmenter jusqu'à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83). Cependant, nous n'observons pas de différence de DM à la JED (cube n°1).



**Figure 91.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_228\_46. Colo : colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_191\_16 est représenté sur la Figure 92. La coloration présente est une opacité délimitée jaune-brune. La DM minérale de l'émail coloré chute entre le quart interne et le quart externe (cubes n°2 et 4) puis remonte à la surface de l'émail. Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83).

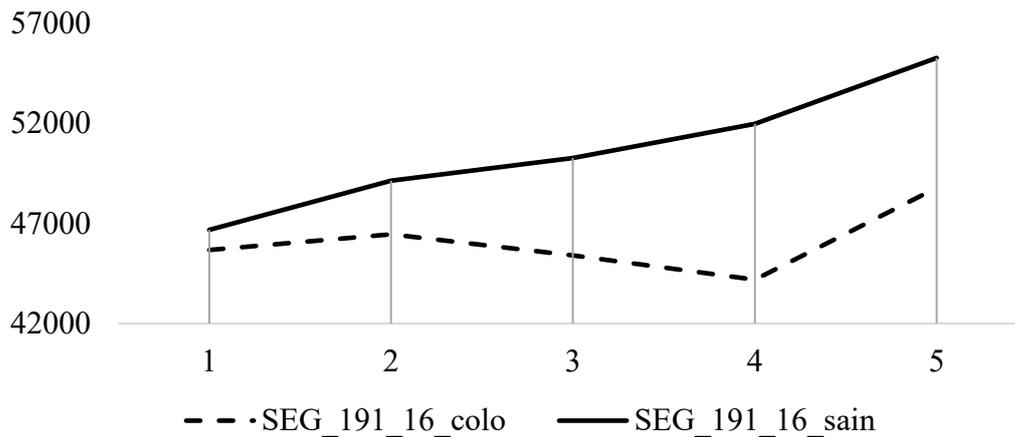


Figure 92. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (noire) et saine (grise) de la dent SeG\_191\_16. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_300\_26 est représenté sur la Figure 93. La coloration présente est une opacité diffuse jaune-brune. La DM minérale de l'émail coloré augmente sans discontinuité de la JED à la surface de l'émail. La DM est inférieure à celle de l'émail sain quelle que soit la localisation de la mesure. La plus grande différence se situe à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est comparable à celui des colorations taphonomiques de l'émail (Figure 89).

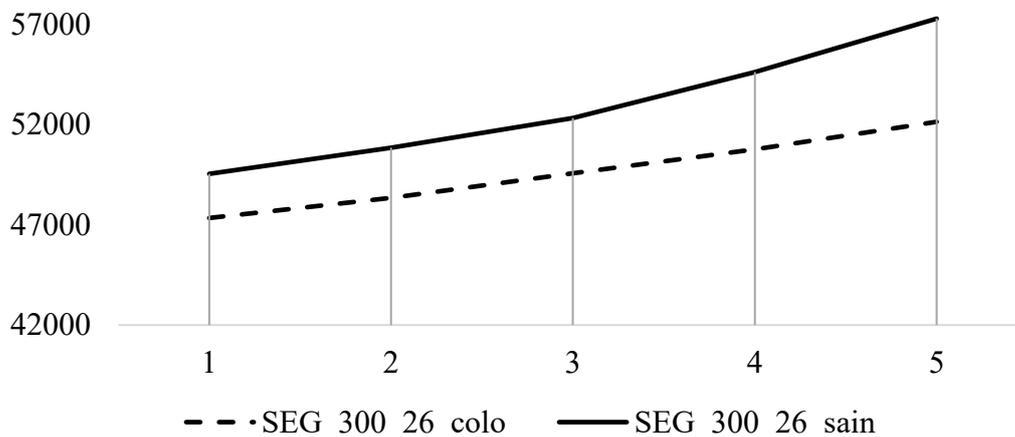


Figure 93. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_300\_26. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_1241\_46 est représenté sur la Figure 94. La coloration présente est une opacité délimitée jaune-brune. La DM minérale de l'émail coloré augmente sans discontinuité de la JED jusqu'à la surface de l'émail. La DM est inférieure à celle de l'émail sain quelle que soit la localisation de la mesure.

L'écart de DM entre l'émail coloré et l'émail sain est constant, puis augmente dans le quart externe (cube n°4) et diminue à la surface (cube n°5). Cette allure de courbe penche donc en faveur d'un déficit plus important dans le quart externe et donc ne correspond pas à un processus superficiel comme ce serait le cas dans le processus taphonomique (Figure 89). Ce profil se rapproche donc de celui d'une HMI (Figure 83).

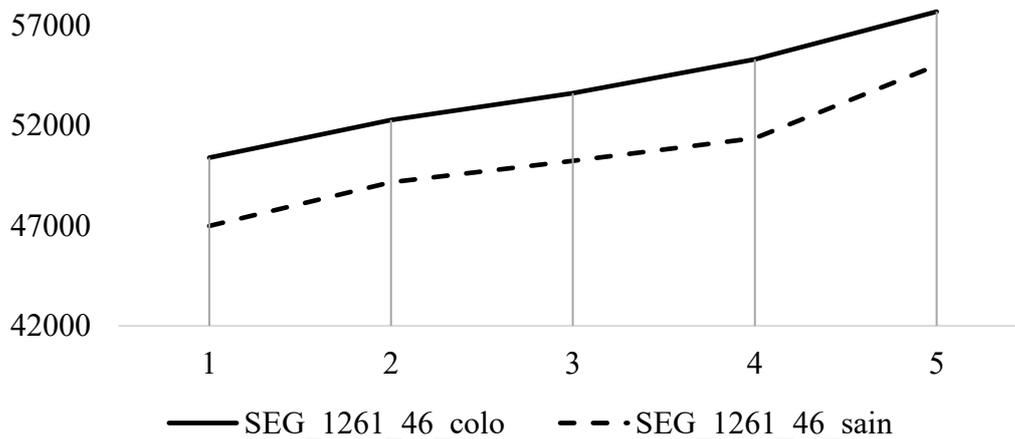


Figure 94. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_1261\_46. Colo, colorée.

Le profil 3D suivant (Figure 95) correspond à la dent n°46 du spécimen SeG\_385 qui présente une coloration délimitée de couleur beige. La DM de l'émail coloré diminue du quart interne (cube n°2) jusqu'au quart externe de l'émail (cube n°4). Ensuite, la DM va augmenter jusqu'à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83). Cependant, nous n'observons pas de différence de DM à la JED (cube n°1).

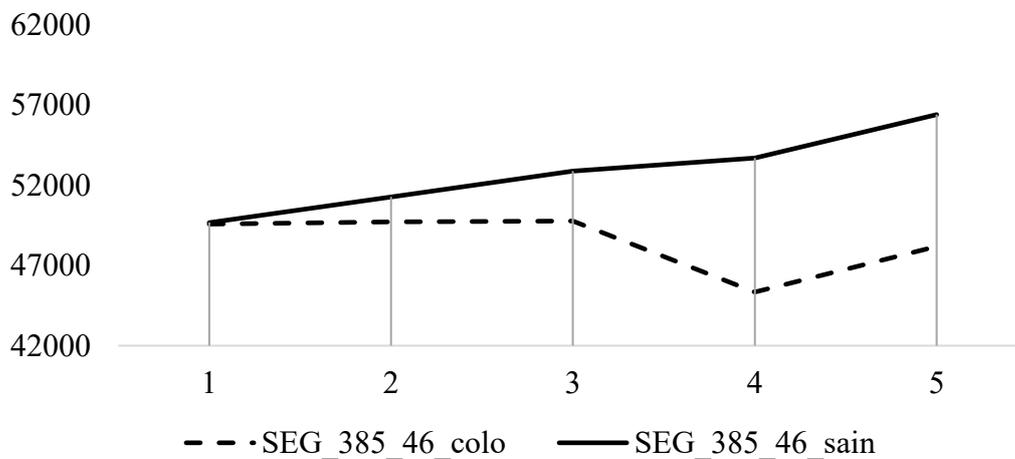
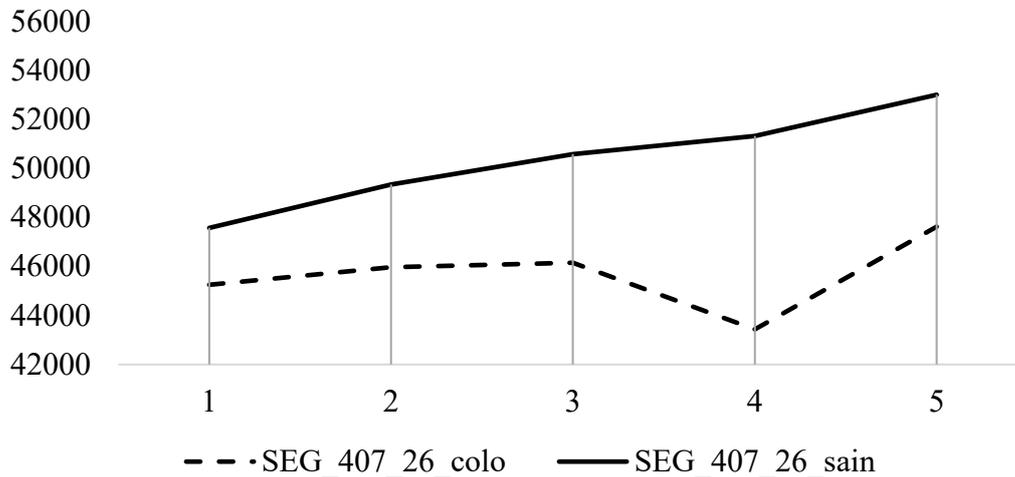


Figure 95. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_385\_46. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_407\_26 est illustré sur la Figure 96. La coloration présente est une opacité délimitée jaune-brune. La DM de l'émail coloré chute entre la moitié et le quart externe de l'épaisseur de l'émail (cubes n°3 et 4), puis remonte à la surface de l'émail. Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83).

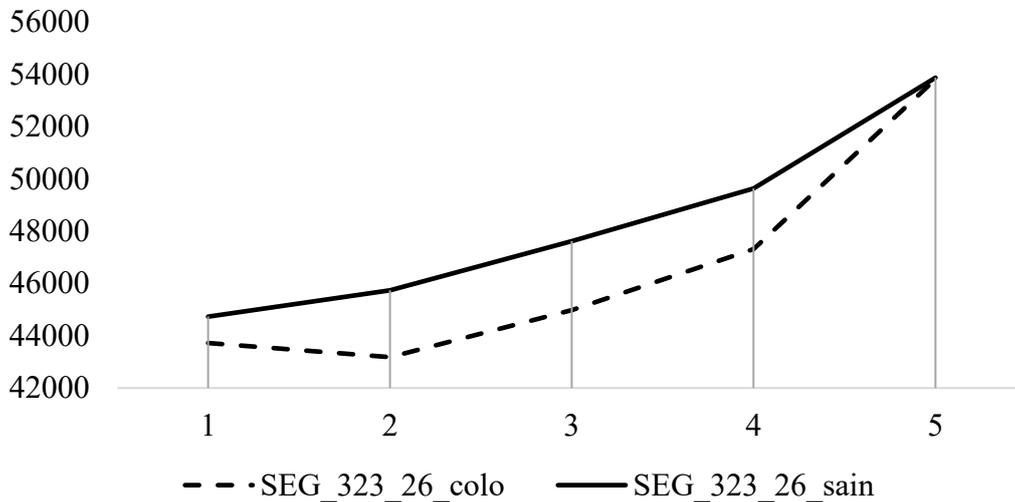


**Figure 96. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_407\_26. Colo, colorée.**

Les profils 3D ci-dessous (Figures 97-102) portent sur l'analyse de 6 dents appartenant à l'individu SeG\_323. Suite à l'identification d'une coloration pouvant s'apparenter à une HMI, nous avons examiné le reste de la denture de ce spécimen et nous avons comptabilisé une opacité délimitée beige sur une incisive centrale permanente et des opacités délimitées jaune-brunes sur les secondes molaires déciduales pouvant s'apparenter à des HSPM. La définition des HMI comprend la présence d'éventuelle opacités sur les incisives permanentes et il a été montré que les HSPM pouvaient être des facteurs prédictifs de HMI (*confer* chapitre 2 §2.2.). Ainsi, nous avons décidé d'analyser toutes ces opacités.

La coloration de la dent n°26 est diffuse et jaune-brune. La DM à travers l'épaisseur de l'émail coloré est inférieure à celle de l'émail sain (Figure 97). L'allure de la courbe représentant l'émail coloré suit celle de l'émail sain à l'exception d'une légère diminution de la DM dans le quart interne (cube n°2). L'écart de la DM entre l'émail coloré et l'émail sain semble être plus important dans la partie interne de l'émail (entre les cubes n°2 et n°4), ce qui se rapprocherait de l'allure de la courbe de l'émail hypominéralisé de dents actuelles atteintes par une HMI présentée dans la Figure 83.

En surface, les DM de l'émail sain et de l'émail coloré sont identiques ce qui penche également en faveur d'un processus interne et non de surface comme dans le cas d'un processus taphonomique (Figure 89).



**Figure 97.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_26. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_323\_11 est représenté sur la Figure 98. La coloration présente est une opacité délimitée beige. Il faut cependant noter que la dent n°11 ne présente pas de différence significative entre les DM de l'émail coloré et de l'émail sain ( $p=0,13$  ; Tableau 54) mais les résultats de la spectroscopie Raman montre une différence significative dans les ratios phosphates/ $\beta$ -carbonates ( $p=0,028$  ; Tableau 53). La XRF n'a pas mis en évidence de coloration taphonomique ( $p=0,4$  ; Tableau 52). La courbe de la DM de l'émail sain diffère des courbes que nous avons analysées précédemment, que ce soit l'émail sain de dents actuelles (Figure 83) ou archéologiques (Figure 89). La DM de l'émail sain diminue du quart interne jusqu'à la surface ce qui est l'inverse de ce qui a été précédemment étudié. La dent n°11 est à l'état de germe ; nous pouvons émettre l'hypothèse que la maturation de l'émail post-éruptive n'ayant pas eu lieu, elle pourrait expliquer en partie cette diminution de la DM en surface. Cependant, nous n'expliquons pas la plus faible DM dans la partie plus interne, à savoir les cubes n°3 et 4. Concernant la DM de l'émail coloré, elle croit très légèrement de la JED jusqu'au quart externe (cube n°4) puis diminue en surface. Il est difficile d'apprécier si cette diminution en surface est due au processus taphonomique ou au déficit en minéralisation post-éruptive. L'analyse de germe dentaire induit probablement un biais et seules des hypothèses peuvent être émises sur le diagnostic de ces colorations.

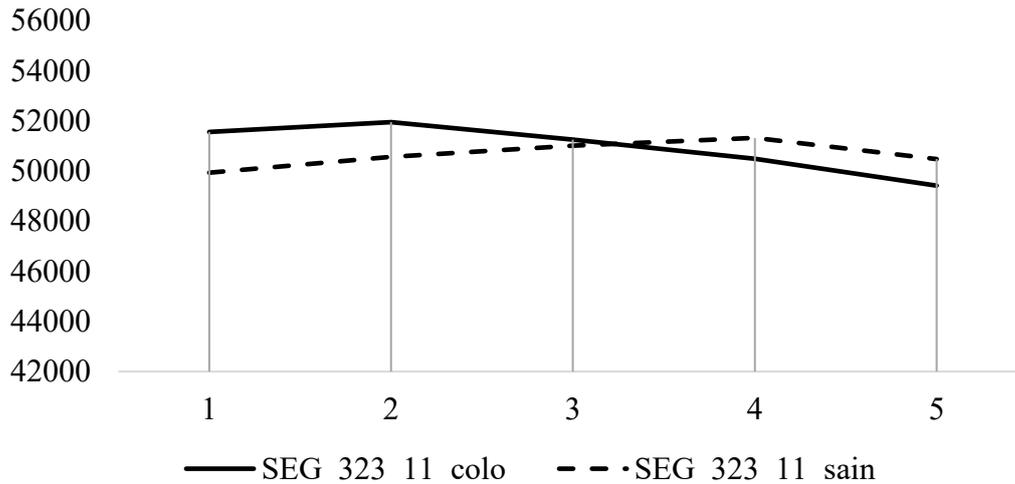


Figure 98. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_11. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_323\_65 est représenté sur la Figure 99. La coloration est délimitée et de couleur jaune-brune. La DM est inférieure à celle de l'émail sain quelle que soit la localisation de la mesure. La DM de l'émail coloré diminue de la JED (cube n°1) au quart interne (cube n°2). Ensuite, la DM va augmenter jusqu'à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83), à savoir une diminution de la DM dans la profondeur de l'émail et une augmentation de la DM en surface. Néanmoins, le plus grand écart de DM entre l'émail sain et coloré ne se situe pas dans le quart externe (cube n°3) mais dans le quart interne (cube n°2).

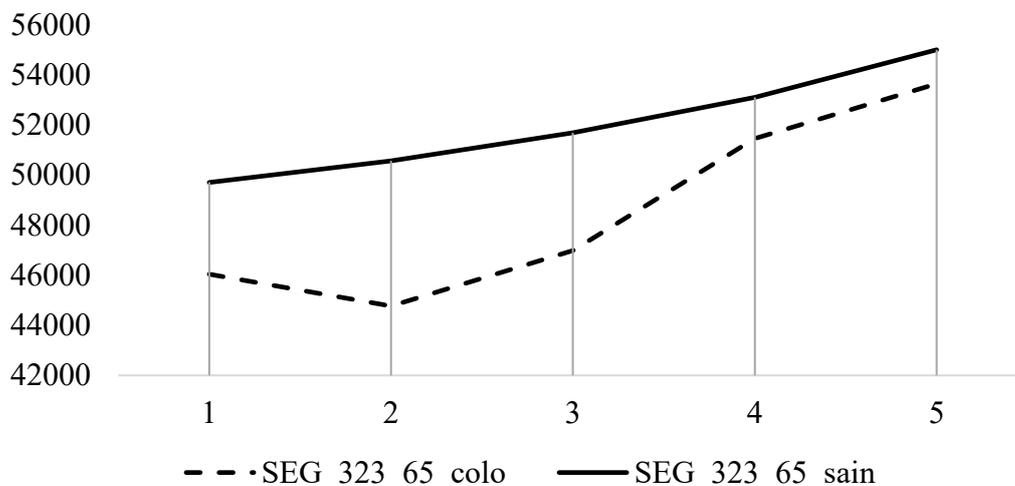
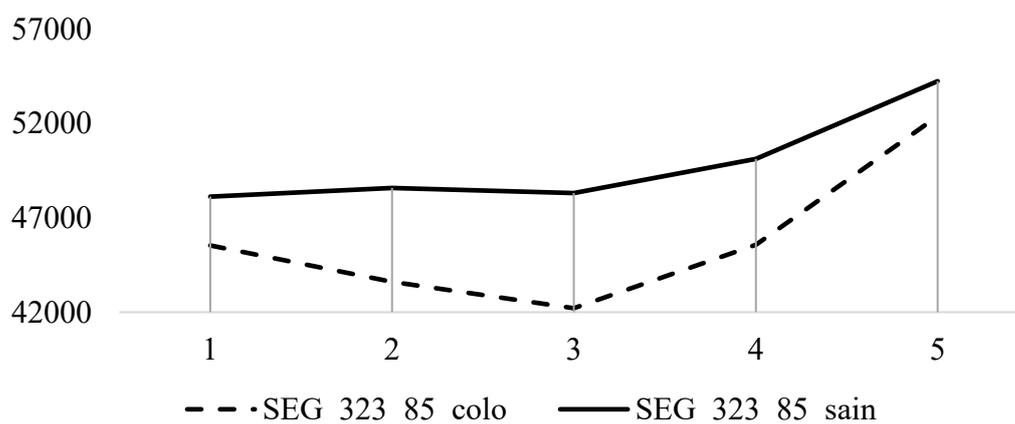


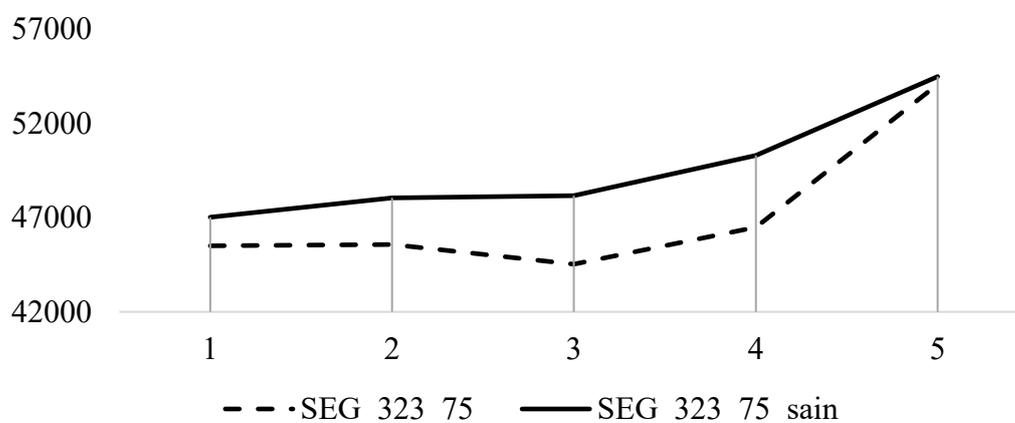
Figure 99. Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_65. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_323\_85 est représenté sur la Figure 100. La coloration est une opacité délimitée jaune-brune. La DM de l'émail coloré chute de la JED interne jusqu'à la moitié de la profondeur de l'émail (cubes n°1 et 3), puis remonte à la surface de l'émail. Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83), bien que la diminution brutale de la DM se situe à la moitié (cube n°3) et non dans le quart externe de l'émail coloré (cube n°4).



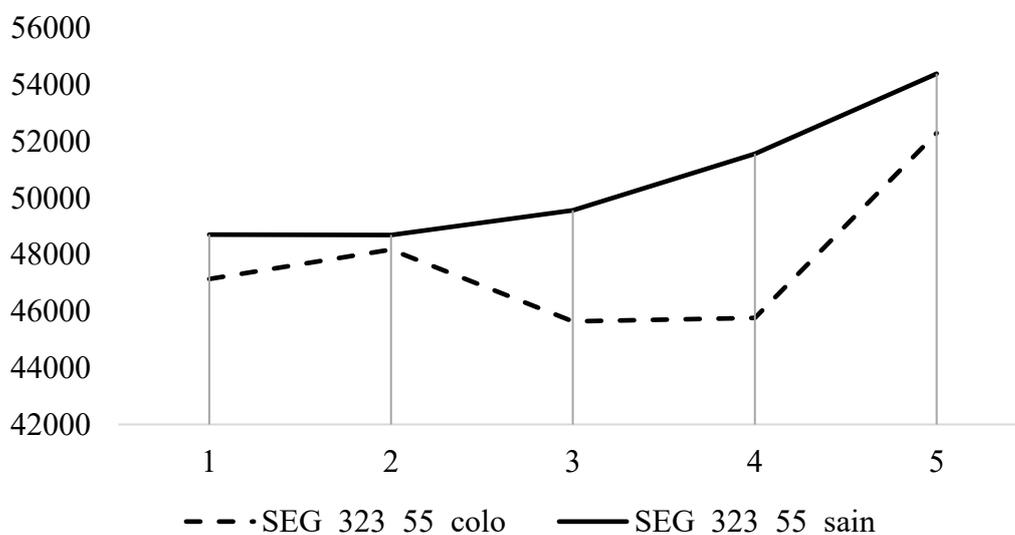
**Figure 100.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_85. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_323\_75 est représenté sur la Figure 101. La coloration est une opacité délimitée jaune-brune. La DM de l'émail coloré diminue entre le quart externe et le quart interne de l'émail (cubes n°2 et 3), puis remonte à la surface de l'émail. Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83), bien que la diminution brutale de la DM se situe à la moitié (cube n°3) et non dans le quart externe de l'émail coloré (cube n°4).



**Figure 101.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_75. Colo, colorée.

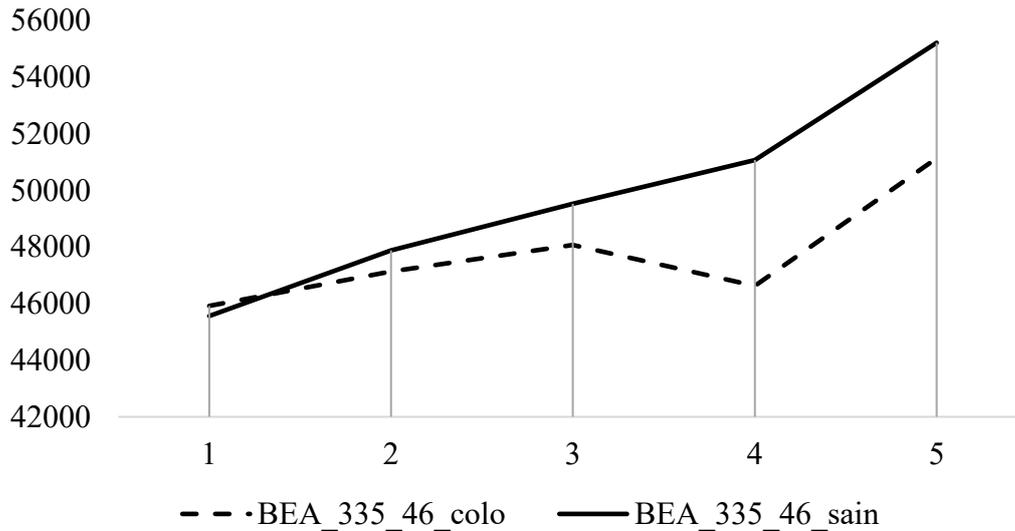
Le profil 3D suivant (Figure 102) correspond à la dent n°55 du spécimen SeG\_323 qui présente une coloration délimitée de couleur jaune-brune. La DM de l'émail coloré diminue du quart interne (cube n°2) jusqu'à la moitié interne de l'émail (cube n°3). Ensuite, la DM va augmenter du quart externe (cube n°4) jusqu'à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est comparable à celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83), bien qu'il y ait une légère augmentation de la DM dans l'émail coloré entre la JED (cube n°1) et le quart interne (cube n°2), phénomène qui n'est pas observé dans l'émail hypominéralisé des dents actuelles atteintes par une HMI (Figure 83).



**Figure 102.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_323\_55. Colo, colorée.

Les deux profils 3D suivants (Figures 104 et 105) portent sur l'analyse de l'émail coloré de 2 dents du même individu Bea\_335. Il s'agit des PMP n°46 et n°16.

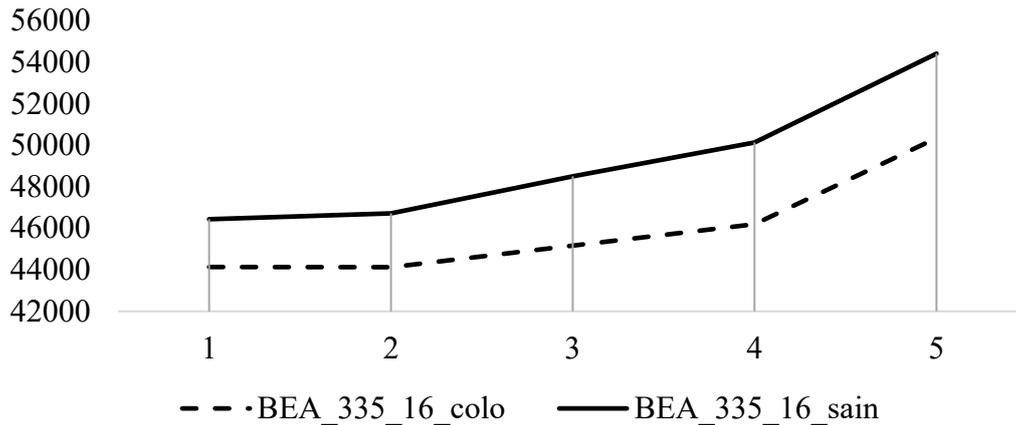
La coloration présente sur la dent n°46 est une opacité délimitée jaune-brune. Des différences significatives de DM ont été montrées entre la zone colorée et la zone saine ( $p=0,006$  ; Tableau 54) mais ces différences significatives apparaissent également en XRF ( $p=0,025$  ; Tableau 52). La DM de l'émail coloré diminue de la moitié interne (cube n°3) jusqu'au quart externe de l'émail (cube n°4). Ensuite, la DM va augmenter jusqu'à la surface de l'émail (cube n°5). Ce profil est caractéristique de celui des hypominéralisations de l'émail observé sur les dents actuelles présentant une HMI (Figure 83). Cependant, nous n'observons pas de différence négative de DM à la JED (cube n°1).



**Figure 103.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface (5) de l'émail dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_335\_46. Colo, colorée.

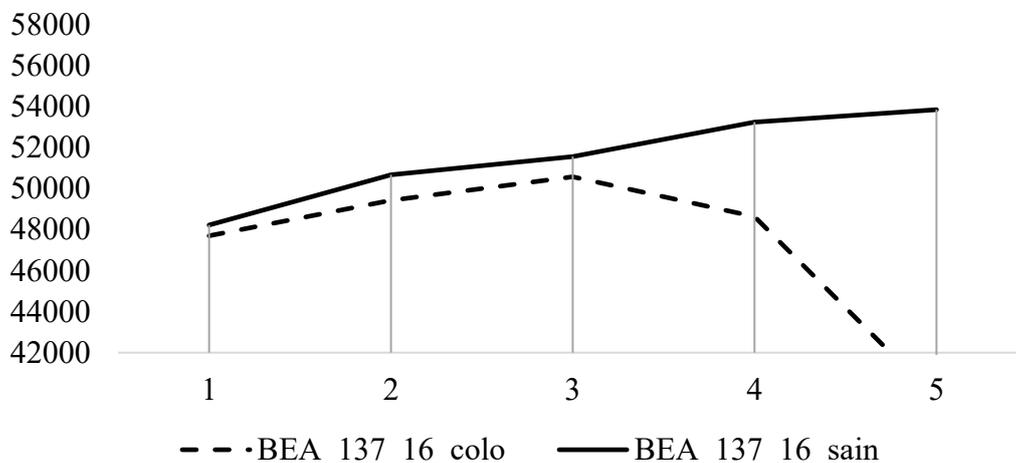
Le profil issu de la dent n°16 de l'individu Bea\_335 est illustré sur la Figure 104. L'opacité analysée est délimitée et de couleur jaune-brune. En microtomographie, aucune différence significative n'avait été établie entre les DM de l'émail coloré et de l'émail sain ( $p=0,71$  ; Tableau 54). Cependant, en spectroscopie Raman, une différence significative des ratios phosphate/ $\beta$ -carbonate avait été mise en évidence ( $p=0,046$  ; Tableau 53). De plus, en XRF, aucune coloration taphonomique n'avait été mise en évidence ( $p=0,18$  ; Tableau 55). Pour ces raisons, nous avons décidé d'étudier le profil 3D des DM de cette dent.

La DM de l'émail coloré augmente sans discontinuité de la JED jusqu'à la surface de l'émail. La DM est inférieure à celle de l'émail sain quelle que soit la localisation de la mesure. Ce profil est différent de ceux des colorations taphonomiques et des HMI car il suit l'allure de la courbe de l'émail sain mais avec des DM plus faibles. Si nous nous en tenons à la différence majeure entre les profils des colorations taphonomiques et des HMI qui est l'augmentation de DM à la surface de l'émail coloré (entre les cubes n°4 et 5) dans le cas des HMI, alors nous pouvons supposer qu'il s'agit d'une HMI. Toutefois, nous n'observons pas de diminution de la DM entre la moitié et le quart externe de l'émail coloré (entre les cubes n°3 et 4). Néanmoins, nous notons une concentration plus élevée en Fe dans cet émail coloré (0,05 *versus* 0,03 ; *confer* Annexe 14) sans pour autant que cette différence soit significative ( $p=0,18$  ; Tableau 55).



**Figure 104.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_335\_16. Colo, colorée.

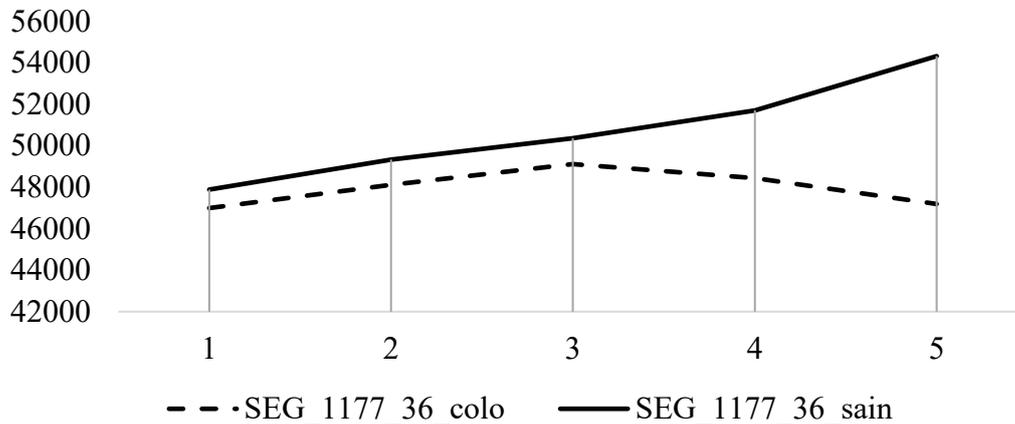
Le profil 3D de la dent Bea\_137\_16 est représenté sur la Figure 105. La coloration présente est une opacité délimitée jaune-brune. La DM de l'émail coloré diminue de manière conséquente dans le quart externe de l'émail. La différence de DM entre l'émail sain et coloré est plus importante à la surface de l'émail. Ce profil est caractéristique d'une perte de DM débutant à la surface de l'émail et se propageant graduellement dans la profondeur. Ce profil est comparable à celui des colorations taphonomiques de l'émail (Figure 89).



**Figure 105.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent Bea\_137\_16. Colo, colorée.

Le profil 3D de la dent SeG\_1277\_36 est représenté sur la Figure 94. La coloration présente est une opacité diffuse jaune-brune. La DM minérale de l'émail coloré est proche de celle de l'émail sain dans la moitié interne (entre les cubes n°1 et 3), puis chute dans la moitié externe de l'émail (entre les cubes n°3 et 5).

La différence de DM entre l'émail sain et coloré est plus importante à la surface de l'émail. Ce profil est caractéristique d'une perte de DM débutant à la surface de l'émail et se propageant graduellement dans la profondeur. Ce profil est comparable à celui des colorations taphonomiques de l'émail (Figure 89).



**Figure 106.** Représentation graphique de la moyenne des densités minérales (en niveaux de gris « GL ») mesurées en 5 cubes équidistants de la JED (1) jusqu'à la surface de l'émail (5) dans des zones colorée (ligne en tirets) et saine (ligne continue) de la dent SeG\_1177\_36. Colo, colorée.

Ainsi, à l'exception de la dent SeG\_323\_11, les courbes des DM de l'émail sain ont toutes la même allure à savoir une augmentation de la JED jusqu'à la surface de l'émail. En résumé, les dents comportant un profil 3D de DM similaire à celui d'une hypominéralisation sont : SeG\_228\_46, SeG\_191\_16, SeG\_323\_75, SeG\_407\_26, SeG\_323\_65, SeG\_323\_26, SeG\_323\_11, Bea\_335\_16, SeG\_323\_85, Bea\_335\_46, SeG\_323\_55, SeG\_385\_46 et SeG\_1261\_46. Les dents ne présentant pas un profil d'hypominéralisation sont : SeG\_300\_26, Bea\_137\_16, et SeG\_1177\_36.

## 7.4. Croisement des données

Ensuite, nous avons croisé les données pour un effectif de 29 dents. Les résultats diffèrent pour 5 dents en fonction de la technique, à savoir la microtomographie ou la spectroscopie Raman (sélection grisée, Tableau 55). Dans 3 de ces cas, les résultats en spectroscopie Raman sont non significatifs. Dans les 2 autres cas, ce sont ceux de la microtomographie qui sont non significatifs. Nous ne pouvons pas conclure qu'une de ces techniques est plus sensible qu'une autre. Il faut noter que l'absence de significativité ( $p > 0,05$ ) d'un test ne permet pas de réfuter un lien entre 2 variables, mais *a contrario* la significativité ( $p < 0,05$ ) d'un test permet d'établir un lien entre 2 variables.

En conservant les résultats significatifs au détriment des non significatifs lorsque les 2 résultats sont proposés, nous pouvons conclure que sur les 29 dents testées, 7 dents présentent à la fois des hypominéralisations de l'émail et des colorations taphonomiques, 8 dents uniquement des hypominéralisations, et 6 autres dents uniquement des colorations taphonomiques. Aucune technique, ni aucun test statistique mis en place n'a pu donner de résultat significatif pour un groupe de 8 dents.

Spécimens	coloration	couleur	XRF	RAMAN	μCT (2D)	μCT (Profil 3D)	DIAGNOSTIC
SeG_228_46	de	Be	+		+	Oui	TPH + HMI
SeG_323_65	de	Jb	+	NS	+	Oui	TPH + HSPM
SeG_555_36	de	Jb	+	NS	NS		TPH
SeG_971_46	de	Jb	+	+			TPH + HMI
SeG_323_85	de	Jb	NS	+	+	Oui	HSPM
SeG_547_36	di	Jb	+		NS		TPH
SeG_191_16	de	Jb	+		+	Oui	TPH + HMI
SeG_1177_36	di	Jb	+	NS	+	Non	TPH
Bea_335_46	de	Jb	+	+	+	Oui	TPH + HMI
SeG_627_16	de	Be	+	NS			TPH
SeG_526_16	de	Be	+	+			TPH + HMI
SeG_53_26	di	jb	+	NS	NS		TPH
SeG_323_55	de	Jb	NS	+	+	Oui	HSPM
SeG_323_75	de	Jb	+	NS	+	Oui	TPH + HSPM
CO_518_47	de	Be	NS	NS			0
SeG_385_46	de	Be	NS	+	+	Oui	HMI
Bea_121_46	de	jb	NS	NS			0
Bea_137_16	de	jb	NS		+	Non	0
SeG_407_26	de	Jb	NS	+	+	Oui	HMI
SeG_1261_46	de	jb	NS		+	Oui	HMI
Bea_335_16	de	Jb	NS	+	NS	Oui	HMI
SeG_323_26	di	Jb	NS	NS	+	Oui	HMI
SeG_300_26	di	Jb	NS	NS	+	Non	TPH
SeG_577_16	de	jb	NS		NS		0
Bea_121_36	de	jb	NS		NS		0
SeG_323_11	de	be	NS	+	NS	Oui	HMI
SeG_385_36	di	Jb	NS		NS		0
SeG_300_46	de	Jb	NS	NS	NS		0
SeG_42_26	di	Jb	NS	NS	NS		0

Tableau 55. Croisement des données (test de Wilcoxon pour échantillons appariés) en fonction des différentes techniques : fluorescence X (XRF), spectroscopie Raman (RAMAN) et microtomographie (μCT). Le profil 3D correspond à une DM moyenne à la surface de l'émail (cube 5) supérieure à la DM moyenne au 3/4 de l'émail (cube 4). NS : non significatif, + : p<0,05, 0 : aucun diagnostic, en gris : résultats différant selon la technique, di : diffuse, de : délimitée, be : beige, jb : jaune-brune.

Le diagnostic positif de coloration taphonomique n'est pas significativement lié au type de colorations, à savoir diffuse ( $p=0,77$  ; Tableau 56). Le diagnostic de HMI est significativement en lien avec les opacités délimitées ( $p=0,03$ ).

Variables	U	Z	p-valeur
Diffuse et TPH	99,5	0,219	0,77
Délimitée et HMI	67	1,636	<b>0,03*</b>

Tableau 56. Tests U-de Mann Whitney réalisés entre le type de coloration (diffuse ou délimitée) et le diagnostic proposé (HMI ou TPH). Effectif n=29. TPH : coloration taphonomique, \*  $p<0,05$ .

### **7.5. Article « Analytical evidence of enamel hypomineralisation on permanent and primary molars among past populations » Garot E, Couture-Veschambre C, Cédric Beauval, Manton D, Rouas P.**

Trois des spécimens dont les restes dentaires étaient les plus complets ont été publiés au cours de ce travail.

État : Publié dans Scientific Report. 2017 May; 7 (1):1712. DOI: 10.1038/s41598-017-01745-w.

# SCIENTIFIC REPORTS

OPEN

## Analytical evidence of enamel hypomineralisation on permanent and primary molars amongst past populations

Elsa Garot<sup>1,2</sup>, Christine Couture-Veschambre<sup>2</sup>, David Manton<sup>3</sup>, Cédric Beauval<sup>4</sup> & Patrick Rouas<sup>1,2</sup>

**Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) and Hypomineralised Second Primary Molars (HSPM) involve prevalent qualitative structural developmental anomalies of tooth enamel affecting the first permanent molars (and often incisors) and the second primary molars, respectively. These demarcated hypomineralised lesions of enamel manifest as white-cream or yellow-brown opacities, with possible post-eruptive localised loss of enamel. Aetiological hypotheses have involved contemporary life factors (i.e. environmental pollutant exposure or early childhood medications) in contrast to factors not limited to a specific time period (i.e. hypoxia at birth or genetic predisposition). Evidence of MIH in ancient populations would reinforce aetiological factors present for many centuries. By means of microtomographic and X-ray fluorescence analyses the present study provides evidence that (i) two archaeological specimens: "S407" (Sains-en-Gohelle, France, 12<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> centuries) and "B335" (Beauvais, France, 15<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> centuries) were MIH-affected, and (ii) one individual "S323" was affected by HSPM and MIH (Sains-en-Gohelle, France, 7<sup>th</sup>–11<sup>th</sup> centuries).**

Teeth contribute to human bodily functions such as mastication, phonation, appearance and maxillofacial development. Enamel is the most highly mineralised bodily tissue, and thus in an archaeological context is the best-preserved<sup>1</sup>. Teeth have been a focus of interest for physical anthropologists over many generations. Teeth provide much information about humans including cultural environment, locational migration, pathology, morphological variation, age estimation and sex differentiation<sup>2</sup>. Pathologies, such as enamel hypoplasia and dental caries, are informative for understanding the health and nutritional status of individuals and populations<sup>3,4</sup>. A modified Developmental Defects of Enamel (DDE) index classifies enamel anomalies, with enamel demarcated opacities separated into two subgroups: white-cream and yellow-brown<sup>5</sup>. In 2001, Molar Incisor Hypomineralisation (MIH)<sup>6</sup> was defined as a qualitative demarcated enamel hypomineralisation defect of tooth enamel affecting at least one first permanent molar (FPM), often affecting permanent incisors<sup>6</sup>. More recently, the term Hypomineralised Second Primary Molar (HSPM) was used to describe similar defects affecting second primary molars<sup>7</sup>. The presence of HSPM increases the risk of MIH, but the absence of HSPM does not exclude the presence of MIH<sup>8–10</sup>. The European Academy of Paediatric Dentistry agreed on MIH diagnosis criteria characterised by at least one of these factors affecting one or more FPMs: demarcated enamel opacity, post-eruptive enamel breakdown, atypical restoration, or atypical extraction due to MIH<sup>11</sup>. Post-eruptive enamel breakdown is defined as a defect that indicates a decrease in the depth of enamel after eruption of the tooth. Loss of initially formed surface enamel after tooth eruption is often associated with a pre-existing demarcated opacity<sup>11</sup>. Today, the worldwide prevalence of MIH is between 2.9 and 44% (average 15%) of children based on current population studies<sup>12</sup>. Given the difficulties involved in treating MIH (hypersensitivity, child anxiety, difficulties with anaesthesia, poor aesthetics, carious lesions with fast progression, failure of restorations), it is essential that the aetiology is determined in order to allow risk assessment and early diagnosis, and if possible, prevention of risk factors<sup>13,14</sup>. Without early diagnosis, post-eruptive structural damage may occur quickly and eventually lead to

<sup>1</sup>Univ. de Bordeaux, UFR des Sciences Odontologiques, Bordeaux, France. <sup>2</sup>Univ. de Bordeaux, PACEA, UMR 5199, Pessac, France. <sup>3</sup>Melbourne Dental School, University of Melbourne, Victoria, Australia. <sup>4</sup>Archéosphère, 2 Rue des Noyers, 11500, Quirbajou, France. Correspondence and requests for materials should be addressed to E.G. (email: elsa.garot@u-bordeaux.fr)



**Figure 1.** Photographs of materials from B335 (Beauvais, France). \*teeth affected by discolorations.

FPM extraction. Currently, in the absence of identified cause(s), no risk prevention actions can be implemented. MIH constitutes a public health problem, with consequences that are not only health-related but also economic. MIH may impact on the well-being of young patients in a crucial period of infant development<sup>15, 16</sup>. The proposal for a single term “MIH” and the establishment of specific diagnosis criteria by consensus promoted and encouraged the multiplication and quality of research works, but some issues remain unresolved<sup>11</sup>. Amongst the aetiological hypotheses mentioned in the literature, some recently introduced factors such as pollutants (dioxin derivatives<sup>17</sup> or Bisphenol<sup>18</sup>) or drugs<sup>19</sup> (antibiotics<sup>20–22</sup> or asthma drugs<sup>23</sup>) have been proposed. Other hypotheses of putative factors that have occurred over time, such as childhood illness (in particular fever), prematurity, hypoxia at birth or a genetic predisposition, are also mentioned regularly<sup>24–29</sup>. Most studies are retrospective in nature and there is currently insufficient published evidence to identify specific aetiological factors relevant to MIH<sup>30</sup>, but authors agree a multifactorial aetiology is likely<sup>27</sup>. The relationship between the occurrence of HSPM and MIH suggests common risk factors<sup>9</sup>. The identification of MIH and HSPM amongst ancient populations would highlight that aetiological factors apart from the proposed contemporary factors have relevance. Except for a few anthropological studies<sup>31–33</sup>, demarcated enamel hypomineralisation has only been observed in individuals from the 20<sup>th</sup> and 21<sup>st</sup> centuries. Anthropological researchers have diagnosed MIH in historical populations based on clinical diagnosis<sup>31–33</sup>. To date, no author has identified an HSPM case in a past population.

In an archaeological context, McKay and colleagues demonstrated, by means of microcomputed tomography, that brown enamel opacities caused by taphonomic contamination can be confused with hypomineralisation<sup>34</sup>, as chemical elements (*e.g.* Iron or Manganese) contained in the burial ground can stain teeth<sup>35, 36</sup> (*post mortem*) and the resultant staining can be similar in appearance to discoloration caused by MIH<sup>37, 38</sup> (*ante mortem*). Before concluding that MIH was present in past populations, it is necessary to discriminate between discoloration caused by pathological (*ante mortem*) or taphonomic (*post mortem*) processes<sup>37</sup>.

Here, two historic osteological series (Sains-en-Gohelle and Beauvais, France) selected owing to a significant number of children aged 6 to 18 years were assessed. Using a diagnostic guide<sup>37</sup>, teeth showing defects indicative of MIH and HSPM, including respectively, 298 and 14 individuals aged from 6 to 18 years were analysed. Three individuals affected by yellow-brown opacities on first permanent molars, incisors or second primary molars were selected for analysis: B335 (Beauvais, France, 15<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> centuries), S323 (Sains-en-Gohelle, France, 7<sup>th</sup>–11<sup>th</sup> centuries) and S407 (Sains-en-Gohelle, France, 12<sup>th</sup>–16<sup>th</sup> centuries). After distribution of shared high resolution images securely via the internet, clinical diagnoses of the three individuals were given by nineteen MIH specialists. This study aimed, by means of enamel microanalyses, to confirm or refute these clinical diagnoses of MIH and HSPM and discuss their implications.

## Results

**Collection examination.** The anthropological study of the B335, S323 and S407 materials highlighted opacities and post-eruptive enamel breakdown appearing similar to MIH and HSPM (Figs 1–3). The maxilla and mandible of B335 from the Beauvais series are stored at the bone library of Pessac (PACEA Lab, UMR5199, University of Bordeaux, France)<sup>39</sup>. This individual was a teenager, aged 14 years 5 months (95% CI between 10 years and 5 months to 18 years 5 months). All permanent teeth were present at death and a brown demarcated opacity was observed on tooth 16 (Fig. 1). The remaining maxillary dentition showed neither discoloration, carious lesions, nor wear (sound). There was *post mortem* loss of teeth 13 and 14. Regarding the mandibular teeth, post-eruptive breakdown (PEB) of enamel with brown discoloration was present on tooth 46. The other mandibular teeth were sound.

The individuals S323 and S407 are from the Sains-en-Gohelle series dated to the medieval period (confirmed by mean of radiocarbon analysis of individuals)<sup>40</sup>. The material from S323 included the first permanent incisor germs, the first permanent molars and the primary molars. Age was estimated at 3 years and 9 months to 6 years<sup>40</sup> (Fig. 2). Some teeth showed similar patterns of MIH and HSPM, such as tooth 16 with a brown discoloration in



**Figure 2.** Photographs of materials from S323 (Sains-en-Gohelle, France). \*teeth affected by discolorations.



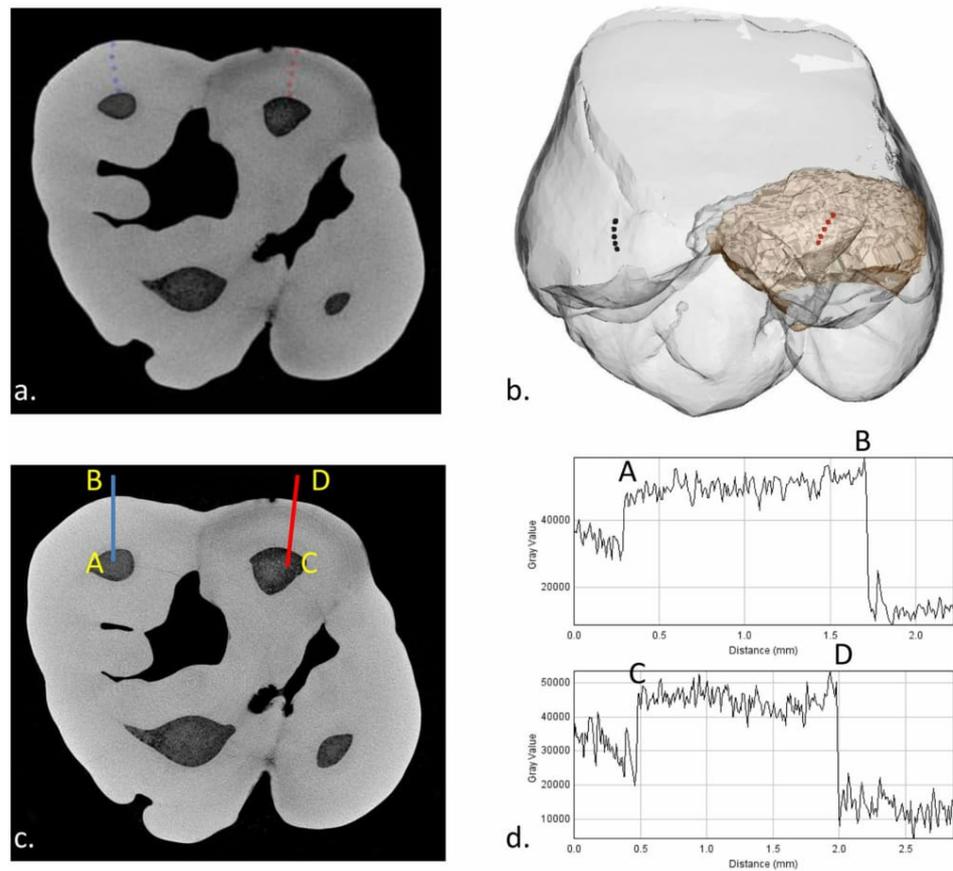
**Figure 3.** Photographs of materials from S407 (Sains-en-Gohelle). \*teeth affected by discolorations.

the occlusal third of the coronal surface, the four second primary molars exhibited brown opacities with PEB in the occlusal third and tooth 11 had creamy discoloration of the incisal edge (Fig. 2). A linear hypoplastic lesion of enamel is observed in the cervical third of tooth 11. The second primary mandibular molars show mild occlusal wear. The other first permanent molars (26, 36 and 46) were sound. Specimen **S407** (Fig. 3) remains included the maxilla, the mandible and teeth including the first permanent molars and first and second primary molars. Age was estimated at 3 years and 4 months to 6 years<sup>40</sup>. A yellow demarcated opacity was present on the occlusal third of the buccal surface of tooth 26. No other discolorations were observed but some carious lesions on primary molars were present (teeth 54, 55, 64, 65, 84 and 85) and slight occlusal wear was observed on the primary molars.

**MIH experts' diagnoses.** Photographic images of the three specimens (Figs 1–3) were examined by 19 MIH specialists (see Methods and SI). Concerning B335, seven MIH experts did not confirm the MIH diagnosis and one of them refuted this diagnosis. Only eight experts confirmed the MIH diagnosis for S323. Scores were better correlated for S407 because 14/19 specialists gave an MIH diagnosis. The Fleiss' kappa test performed for each specimen showed a poor agreement between responses ( $\kappa < 0$ ) concerning MIH diagnosis (SI).

**Microcomputed tomographic ( $\mu$ CT) analyses.** Mineral densities of discoloured and normal enamel areas at the same coronal height for each tooth were measured from  $\mu$ CT data in 3D (Fig. 4a) and 2D (Fig. 4b; see Methods; SI); summarised in Table 1. Except for S323(11), all teeth with discolorations had significantly lower mineral densities in stained enamel ( $P < 0.05$ ). Amongst the control samples including normal teeth [B335(36), S323(16) and S323(21)], no significant differences in mineral density were detected ( $P > 0.1$ ; Table 1).

Mineral concentration line profiles from Dento-Enamel Junction (DEJ) to surface through apparently normal enamel (line AB) and through a discoloured region (line CD) in the discoloured teeth group ( $n = 8$  with the exception of S323(11)) and the control group ( $n = 3$ ) are illustrated in Fig. 5 (and SI). A decreasing mineral concentration of up to 7% in the middle enamel region along line CD compared with the apparently normal enamel



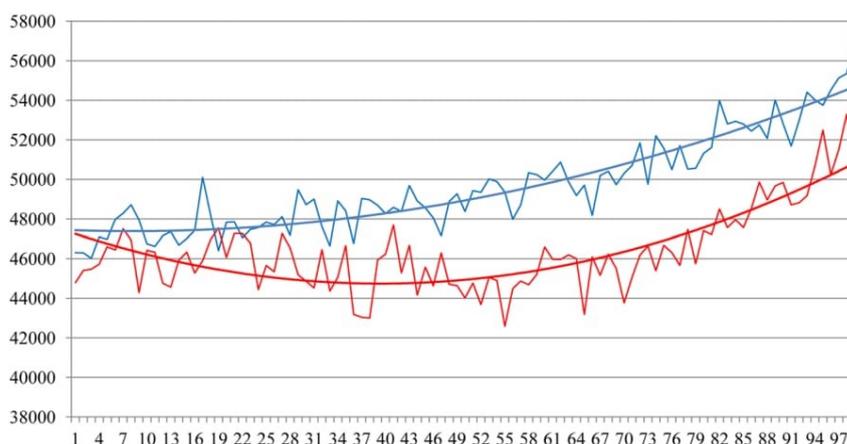
**Figure 4.** Images of microcomputed tomography analyses in 3D and 2D: (a,b) location of 5 analysis cubes from DEJ to surface on normal (blue cubes) and discoloured (red cubes) areas. (c,d) location of profile lines from EDJ to surface through normal (AB) and discoloured (CD) areas.

Ind (n°tooth)	Analyse 1 (GL)					Analyse 2 (GL)					P value	
	mdd1	mdd2	mdd3	mdd4	mdd5	mdd1	mdd2	mdd3	mdd4	mdd5		
a.	B335(46)	4082	4453	1453	740	-357	7038	4531	4323	2843	2396	0.007*
	B335(16)	4071	3948	3337	2600	2300	351	1458	1363	894	2167	0.005*
	S323(26)	60	2329	2639	2554	1013	1652	6173	7293	5612	3312	0.005*
	S323(11)	1059	829	-243	-1380	-1628	-6879	-561	-528	-914	-784	0.1
	S323(55)	2099	5799	3928	518	1575	571	5704	4161	1711	2591	0.005*
	S323(65)	1357	1652	4712	5793	3665	1540	262	4219	5173	1879	0.005*
	S323(75)	417	3800	3628	2468	1523	2329	3461	6010	2553	-1826	0.013*
	S323(85)	1859	4557	6108	4982	2594	1723	476	1570	1799	1371	0.005*
	S407(26)	5381	7887	4428	3378	2321	4395	6955	3385	3090	3131	0.005*
b.	B335(36)	-731	-198	447	776	-384	172	-163	-813	-583	-492	0.2
	S323(16)	-1029	-723	-548	-298	134	1264	1323	1184	1319	123	0.3
	S323(21)	-63	218	594	655	-232	-720	-707	-176	-538	366	0.6

**Table 1.** Wilcoxon test for paired samples performed from 3D data between normal and discoloured enamel among discoloured teeth (a), and between normal areas of enamel among control sample (b). Analyse 1 was repeated a second time (analyse 2). Ind, individual; GL, Grey Level; mdd, mineral density difference between the two enamel areas. \*Statistically significant ( $P < 0.05$ ).

along line AB is apparent in Fig. 5 (and SI). Also, in hypomineralised enamel lesions there is a reverse mineral density gradient with highest density at the DEJ and lowest towards the surface, the opposite of normal enamel.

**X-ray fluorescence analyses.** Elemental chemical analyses (see Methods) provided information on taphonomic contamination by one or several chemical elements (Mn, Fe, Cu and Pb). The discolorations on teeth 65 and 75 from S323 were characterised by an increase in Mn (respectively,  $P = 0.01$  and  $0.04$ ; Table 2). An increase



**Figure 5.** Mineral densities of normal (blue line) and hypomineralised (red line) enamel from 99 equidistant measurements taken on line from DEJ to surface including the discoloured sample (n = 8 with the exception of S323(11)) and the control sample (n = 3).

Sample	Chemical elements	Mn		Fe		Cu		Pb		P value
		DC	NO	DC	NO	DC	NO	DC	NO	
B335(46)	Mean	<b>0.072</b>	<b>0.030</b>	<b>0.189</b>	<b>0.026</b>	<b>0.011</b>	<b>0.011</b>	<b>0.104</b>	<b>0.048</b>	0.01*
	SD	0.088	0.029	0.232	0.019	0.004	0.011	0.087	0.036	
B335(16)	Mean	<b>0.048</b>	<b>0.090</b>	<b>0.051</b>	<b>0.025</b>	<b>0.024</b>	<b>0.016</b>	<b>0.100</b>	<b>0.101</b>	0.18
	SD	0.039	0.132	0.064	0.022	0.015	0.012	0.086	0.132	
S323(26)	Mean	<b>0.034</b>	<b>0.024</b>	<b>0.018</b>	<b>0.013</b>	<b>0.007</b>	<b>0.005</b>	<b>0.044</b>	<b>0.009</b>	0.21
	SD	0.018	0.016	0.020	0.013	0.008	0.001	0.053	0.006	
S323(11)	Mean	<b>0.055</b>	<b>0.051</b>	<b>0.045</b>	<b>0.052</b>	<b>0.006</b>	<b>0.007</b>	<b>0.012</b>	<b>0.015</b>	0.40
	SD	0.039	0.037	0.055	0.065	0.002	0.000	0.007	0.007	
S323(55)	Mean	<b>0.771</b>	<b>0.071</b>	<b>0.093</b>	<b>0.012</b>	<b>0.008</b>	<b>0.011</b>	<b>0.155</b>	<b>0.032</b>	0.05
	SD	0.824	0.035	0.117	0.009	0.001	0.009	0.205	0.035	
S323(65)	Mean	<b>0.567</b>	<b>0.047</b>	<b>0.234</b>	<b>0.056</b>	<b>0.020</b>	<b>0.004</b>	<b>0.169</b>	<b>0.038</b>	0.01*
	SD	0.408	0.036	0.317	0.046	0.015	0.001	0.179	0.049	
S323(75)	Mean	<b>0.384</b>	<b>0.062</b>	<b>0.762</b>	<b>0.038</b>	<b>0.007</b>	<b>0.005</b>	<b>0.041</b>	<b>0.013</b>	0.04*
	SD	0.331	0.054	1.020	0.031	0.001	0.000	0.024	0.013	
S323(85)	Mean	<b>0.134</b>	<b>0.023</b>	<b>0.147</b>	<b>0.052</b>	<b>0.005</b>	<b>0.004</b>	<b>0.029</b>	<b>0.038</b>	0.07
	SD	0.091	0.001	0.156	0.051	0.000	0.001	0.010	0.049	
S407(26) <sup>a</sup>	Mean	<b>0.063</b>	<b>0.023</b>	<b>0.092</b>	<b>0.049</b>	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	<b>0.005</b>	<b>0.008</b>	0.12
	SD	0.031	0.001	0.019	0.002	0.001	0.001	0.0002	0.001	

**Table 2.** Relative concentrations of Mn, Fe, Cu and Pb and Wilcoxon test for paired sample performed between discoloured (DC) and normal (NO) enamel among discoloured teeth. SD, Standard deviation; <sup>a</sup>data from an unpublished study. \*Statistically significant (P < 0.05).

in Fe was observed in the discoloured area of tooth 46 from B335 (P = 0.01). Other teeth did not show evidence of a taphonomic contamination by these elements (P > 0.05).

### Discussion and Conclusion

Mineral density analyses suggest that the three studied specimens showed evidence of demarcated enamel hypomineralisation on first permanent molars. Moreover, for one specimen (S323), demarcated enamel hypomineralisation on second primary molars is present. A mean mineral density decrease of 7% was calculated at the midway between the DEJ and the surface. Studies highlighted decreased mineral density in hypomineralised areas from 5 to 28% in contemporary hypomineralised teeth<sup>41–47</sup>, with the lower difference possibly due to mineral gain from soil-based minerals incorporated in porous enamel. However, mineral densities of normal enamel discoloured by addition of soils elements were comparable to the mineral densities of unaffected teeth<sup>34</sup>. Similarly to previous studies on contemporary MIH teeth<sup>43–47</sup>, the present results show a constant increase of mineral density in normal enamel from DEJ to surface contrary to a reverse gradient in hypomineralised enamel<sup>43, 45–47</sup>. This MIH feature excludes a possible taphonomic process such as enamel dissolution in acidic burial soil inducing demineralisation starting at the enamel surface<sup>38</sup>. In addition, in the present study, X-ray fluorescence highlighted

*post mortem* incorporation of burial components (*i.e.* Fe or Mn) in some samples (B335 and S323), putatively explained by increased porosity of hypomineralised enamel<sup>41, 44</sup>.

All of these signs clearly point to the most ancient case of MIH with HSPM in an osteological collection dated to the 7<sup>th</sup>–11<sup>th</sup> centuries. This is the first study investigating the structure of discoloured enamel structure to confirm MIH and HSPM diagnoses. No reports of HSPM in past populations have been published; however, authors have reported “probable” MIH in historical populations. A collection of a London cemetery (Broadgate), including individuals suffering from rickets, dated from the 17<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> centuries was previously studied<sup>31, 48</sup>. Scrutiny of the results highlighted a number of points to be clarified. In 2007, these authors reported prevalence for hypoplasia of 93.2% amongst 41 sub-adults, confirmed in some cases by scanning electron microscope. The hypoplastic enamel included 63.6% of molars with severe or moderate lesions<sup>31</sup>. One year later, in another publication, the authors reattributed all the molar teeth with hypoplastic enamel to MIH, and claimed MIH prevalence of 93.2% with 63.6% of molars “showing moderate or severe lesions” amongst the samples<sup>48</sup>. The MIH prevalence of the studied population (93.2%) appears to be very high in comparison to current data (2.9–44%)<sup>12</sup>. Enamel microanalysis for mineral density and elemental profile as well as  $\mu$ CT analysis to allow the determination of enamel thickness would allow the enamel hypoplasia to be distinguished from “probable” MIH. Another case of ‘probable’ MIH was reported in teeth from a skull dating from the mid-15<sup>th</sup> century<sup>32</sup>. As a result of unusual localization of brown discolorations (*i.e.* first and second premolars, second and third molars) and molar wear, further investigations are required to confirm whether this is MIH or taphonomic stain. A substantial study involving the clinical examination of three archaeological series (dated from 12<sup>th</sup> to 20<sup>th</sup> centuries) reported prevalence of 3.1% for MIH and 30.3% for linear enamel hypoplasia<sup>33</sup>. As mentioned by the authors, ‘mix-ups’ between wear (attrition, erosion and abrasion), nutrition, *pre* and *post mortem* discolouration, MIH and other enamel defects in archaeological series are more than probable<sup>33</sup>; the reason why confirmation of diagnosis by microanalyses is important. The present results regarding the uncertainty of visual diagnosis by MIH experts showed that no clinical diagnosis of MIH in past populations is reliable. In fact, authors should confirm their results by means of non-destructive microanalyses<sup>37</sup>.

The discovery of the oldest specimen (dated to the 7<sup>th</sup>–11<sup>th</sup> centuries) reported to be affected by MIH and HSPM confirmed by microanalyses raises questions about the importance of modern aetiological hypotheses such as medications or environmental pollutants. Several authors have raised the possibility of a link between taking antibiotics during the first years of life and the occurrence of MIH<sup>21, 22, 49–51</sup>. However, the subsequent discovery of the first antibiotic (penicillin) in 1928 and its commercialisation in France in 1945<sup>52</sup> negates a possible link with MIH and HSPM amongst our sample. This is consistent with Ghanim’s study showing no link between MIH and antibiotics<sup>20</sup>. Noting that in these retrospective studies, it is not possible to identify the real causative factors such as childhood illness (putatively high fever) or the associated medication or both. The hypothesis of environmental dioxins has also been raised in the literature<sup>53, 54</sup>. In fact, authors proposed that dioxins delivered via maternal breastfeeding could be a causative factor of MIH<sup>53</sup>. However, these compounds have only been present in the environment since 1874<sup>55</sup>. The majority of international studies have not established links between MIH and dioxins<sup>17, 49, 50, 56, 57</sup>. More recently, another modern aetiological factor hypothesis has arisen, the bisphenols<sup>18</sup>, used as base compounds in the manufacturing of polycarbonates and epoxy resins. Bisphenol A (BPA) was used worldwide in plastic containers (such as baby bottles and food containers) and since prohibition in France (2015), BPAs were replaced by bisphenol analogues (BPS and BPF)<sup>58</sup>. The commercialisation of BPA took place in 1950<sup>59</sup>, which is not compatible with a possible link with the cases of MIH and HSPM living in the medieval period. None of these modern aetiological hypotheses can explain the enamel defects on the three investigated individuals. If the possible aetiological factors which may have occurred during the 7<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> centuries are studied, childhood illness and *peripartum* events seem to be most plausible. Diseases such as otitis media<sup>50</sup>, pneumonia<sup>49, 50</sup>, infections of the urinary tract<sup>60</sup>, or chicken pox<sup>21</sup> have been positively associated with MIH. A systematic review investigating 25 studies on MIH aetiological factors determined a probable link with childhood disease<sup>27</sup>. It has also been suggested that the causative factor of MIH could have been a lack of oxygen occurring during deliveries<sup>29, 61–63</sup>. Hypoxia can be associated with medical problems at birth, such as prematurity, caesarean sections<sup>29</sup>, respiratory difficulties and prolonged duration of labour<sup>61</sup>. Other studies have also implicated prematurity in MIH occurrence<sup>23, 50, 61, 64</sup>. More recently a genetic predisposition in conjunction with one or several others factors has also been proposed<sup>24, 26</sup>. Prospective studies should provide more complete temporal results but they are long and complex to carry out. It would take at least six years and the eruption of the FPM in order to collect the initial results, and the initial sample must be large enough to meet the challenges of frequent medical monitoring over a long period (from the third trimester of pregnancy until the age of six to seven years). The first publication using this methodology provides limited information confirming aetiological hypotheses<sup>54</sup>. Pending the results of prospective studies, the increase of MIH prevalence study numbers on ancient populations, including well documented archaeological series, will improve understanding of the MIH pathophysiology.

Thus, the discovery of the oldest specimens with MIH and the first archaeological specimen with HSPM in an immature individual from archaeological series dated from 7<sup>th</sup>–18<sup>th</sup> centuries indicates similar aetiological factors existing now and in the medieval period such as hypoxia during deliveries, prematurity or childhood diseases, without excluding genetic predisposition. But it should be borne in mind that the aetiology of MIH may be multifactorial. The repeat of observations of a significant prevalence of MIH in older populations would confirm our observations, downplaying somewhat the role of uniquely modern aetiological factors (derivatives of dioxin, bisphenols, antibiotics). The present study highlights the potential contribution of bio-archaeological studies on a current public health problem.

## Methods

**Collection assessment.** Individuals with estimated ages from 6 to 18 years old were studied from two archaeological series (Beauvais and Sains-en-Gohelle, France). Only young individuals were chosen owing to

the potential for early breakdown of enamel caused by dental caries or wear in archaeological materials in older individuals. The diagnosis of MIH requires erupted FPM in individuals 6 years and older<sup>65</sup>. Some precautionary principles were applied; individuals with taphonomic discoloration of the mandible or maxilla and individuals showing discoloration on all teeth were excluded. Three individuals presenting the most complete dental remains and showing enamel defects indicative of MIH and/or HSPM were selected for analyses: B335, S323 and S407. The first individual (B335) was retrieved from the cemetery of the convent “Les soeurs Grises”, located in Beauvais (France, 15<sup>th</sup>–18<sup>th</sup>, SI). The convent was occupied by the religious community between 1480 and the late 18<sup>th</sup> century<sup>39,66</sup>. The age at death of B335 was estimated using the Liversidge and Marsden method<sup>67</sup>. The other specimens (S323 and S407) are from the Sains-en-Gohelle cemetery (France, 7<sup>th</sup>–17<sup>th</sup> centuries, SI)<sup>40</sup>. The age at death of these two specimens was estimated by means of the Moorrees method<sup>68</sup>.

**Clinical diagnosis.** The individuals’ teeth were examined by means of a hand magnifying lens with artificial lighting. Standardised photographs of the three specimens showing brown discolorations similar to MIH and HSPM were taken with a Nikon® (Tokyo, Japan) SLR camera D90, a Metz® (NJ, USA) macro ring flash and a Tamron® (Saitama, Japan) lens SP AF 90 mm f/2.8. Each maxilla, mandible and teeth were photographed on a black matt paper: occlusal view for bones and five views (labial, mesial, lingual, distal and occlusal) for each tooth.

A questionnaire asking for each specimen (B335, S323 and S407) “is it typical of MIH lesions?” and “How did you make your decision?” including photographs of the three specimens was created. It was sent on 23 February 2016 to 76 MIH specialists by means of ‘Google forms’ (Google®, CA, USA). The reliability of MIH and HSPM diagnosis by means of photographs were previously validated<sup>69</sup>. Participants selected were authors who had published on MIH in either first or last position in an international journal with an impact factor or in the journal of the EAPD (European Academy of Paediatric Dentistry). A search was performed on 15 February 2016 on Medline/Pubmed with the words “enamel AND hypomineralisation” and 76 authors were identified. From this group, 19 participants answered. The Fleiss’ kappa test was performed between the three possible responses (yes, no and unsure) for each specimen. In a recent published diagnostic guide it was advised that enamel microanalyses should be undertaken to avoid taphonomic bias and MIH misdiagnosis<sup>37</sup>. Therefore, the authors recommended using X-ray fluorescence analyses aiming to highlight a *post mortem* contamination by Fe or Mn in addition to microtomographic analyses to confirm enamel hypomineralisation<sup>37</sup>.

**Microtomographic analyses.** The samples including nine discoloured teeth (B335(46), B335(16), S323(26), S323(11), S323(55), S323(65), S323(75), S323(85) and S407(26)) and three control teeth (B335(36), S323(16) and S323(21)), were imaged using high resolution microtomography at the laboratory PLACAMAT (UMS 3626) in Bordeaux, France (Microtomograph X GE™ V/TOME/X S equipment, NY, USA). The scanning parameters were 120 kV, 147  $\mu$ A for the X-ray tube, exposure time 500 ms with four integrations per projection, 2550 projections/360° and 0.1 mm copper filter placed on the source to reduce beam hardening artefacts. The voxel size was  $7 \times 7 \times 7 \mu\text{m}^3$ . The final volume was reconstructed in 16-bit. The microCT images were compiled with the 7.0.1. software Avizo® (Visualization Sciences Group, FEI® Company, OR, USA). In order to take measurements at the same coronal height, images were reconstructed according to the plane of section through two points located at the buccal cervical surface and one point on the lingual cervical surface.

From a selected tooth area, five cubes ( $\approx 49 \times 49 \times 49 \mu\text{m}^3$ ) were located by means of the *square brush* segmentation tool from the enamel surface to the DEJ (Fig. 4a and SI):

- at the enamel surface (cube n°1);
- at the DEJ (cube n°5).

Then, three equidistant cubes were located:

- cube n°3 at the midway between cubes 1 and 5;
- cube n°2 at the midway between cubes 1 and 3;
- cube n°4 at the midway between cubes 3 and 5.

This process was performed in normal and discoloured enamel. A second round of measures from another selected tooth area was undertaken by the same operator. The mean of the mineral density in each cube was calculated by the function *Measure and Analyse* with Avizo® software. The mineral density difference (mdd) provided in Table 1 corresponds to the *formula*: normal enamel mineral density - discoloured enamel mineral density. To achieve a 3D representation of the MIH defect (Fig. 4a), normal and hypomineralised enamel were segmented by means of the segmentation tool *magic wand* from the Avizo® software. Mineral density profiles (2D; Figs 4b and 5) were analysed using function *Plot Profile* from ImageJ® 1.45 software (NIH, MD, USA). From a slice through affected enamel, the average of grey levels represented by the line from the DEJ to the surface was calculated (Fig. 4b). Along this line for each  $7 \mu\text{m}$  a grey level was recorded. By means of the R statistical software (A language and environment for statistical computing available at <https://www.r-project.org/>), this line was segmented in 99 equidistant points starting at the DEJ and finishing at the surface (SI). Then, the mean values of these 99 measurements for hypomineralised and normal areas were compared (Fig. 5). Normal enamel measurements from the control group ( $n = 3$ ) and normal enamel of the discoloured group were determined ( $n = 8$  with the exception of S323(11)). Discoloured enamel measurements were from discoloured enamel from the discoloured group ( $n = 8$  with exception of 321(11)).

**X-ray fluorescence analyses.** The samples including nine discoloured teeth (B335(46), B335(16), S323(26), S323(11), S323(55), S323(65), S323(75), S323(85) and S407(26)) were analysed by means of X-Ray fluorescence (Seiko SEA 6000VX, Seiko Corp., Tokyo, Japan) with the following parameters: collimator (0.5 × 0.5 mm), time measurement of 300 s and Rhodium anticathode. Two experimental conditions were used: condition 1 (without filter and tube voltage: 15 kV) to determine relative concentrations of P and Ca, and condition 2 (filter for lead and tube voltage: 50 kV) to determine relative concentrations of Sn, Mn, Cu, Zn, Fe, Pb and Sr. A spot in normal enamel was located at the same coronal height of its homologous spot in stained enamel. This process was repeated a second time. Thus, two measures by area in two distinct zones were performed in stained and normal enamel on the tooth surface. Only chemical elements (in oxide form) that may stain enamel were selected: Mn, Cu, Pb and Fe<sup>70–72</sup>.

**Statistical tests.** Non-parametric statistical tests (Wilcoxon test for paired samples) were carried out using Statistica® software Package Version 7.1 (Statsoft Dell, OK, USA) to compare data from normal and discoloured enamel. A Fleiss's kappa test was performed with R software to test the inter-examiner agreement (n = 19).

## References

- Nanci, A. In *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function* Ch. 1, 1–13 (Mosby Elsevier, 2008).
- Hillson, S. In *Dental Perspectives on Human Evolution: State of the Art Research in Dental Paleoanthropology* (eds Bailey, S. E. & Hublin, J. J.) xxiii–xxviii (Springer Netherlands, 2007).
- Walter, B. S., DeWitte, S. N. & Redfern, R. C. Sex differentials in caries frequencies in Medieval London. *Arch. Oral Biol.* **63**, 32–39 (2015).
- Goodman, A. H., Armelagos, G. J. & Rose, J. C. Enamel hypoplasias as indicators of stress in three prehistoric populations from Illinois. *Hum. Biol.* **52**, 515–528 (1980).
- Clarkson, J. A review of the developmental defects of enamel index (DDE Index). Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. Report of an FDI Working Group. *Int. Dent. J.* **42**, 411–426 (1992).
- Weerheijm, K. L., Jalevik, B. & Alaluusua, S. Molar-incisor hypomineralisation. *Caries Res.* **35**, 390–391 (2001).
- Elfrink, M. E., Schuller, A. A., Weerheijm, K. L. & Veerkamp, J. S. Hypomineralized second primary molars: prevalence data in Dutch 5-year-olds. *Caries Res.* **42**, 282–285 (2008).
- Mittal, N. & Sharma, B. B. Hypomineralised second primary molars: prevalence, defect characteristics and possible association with Molar Incisor Hypomineralisation in Indian children. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **16**, 441–447 (2015).
- Elfrink, M. E. et al. Deciduous molar hypomineralization and molar incisor hypomineralization. *J. Dent. Res.* **91**, 551–555 (2012).
- Negre-Barber, A., Montiel-Company, J. M., Boronat-Catala, M., Catala-Pizarro, M. & Almerich-Silla, J. M. Hypomineralized Second Primary Molars as Predictor of Molar Incisor Hypomineralization. *Sci. Rep.* **6**, 31929 (2016).
- Weerheijm, K. L. et al. Judgement criteria for molar incisor hypomineralisation (MIH) in epidemiologic studies: a summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *Eur. J. Paediatr. Dent.* **4**, 110–113 (2003).
- Elfrink, M. E. C., Ghanim, A., Manton, D. J. & Weerheijm, K. L. Standardised studies on Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) and Hypomineralised Second Primary Molars (HSPM): a need. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **16**, 247–255 (2015).
- Ghanim, A., Morgan, M., Marino, R., Bailey, D. & Manton, D. Molar-incisor hypomineralisation: prevalence and defect characteristics in Iraqi children. *Int. J. Paediatr. Dent.* **21**, 413–421 (2011).
- Jalevik, B. & Klingberg, G. A. Dental treatment, dental fear and behaviour management problems in children with severe enamel hypomineralization of their permanent first molars. *Int. J. Paediatr. Dent.* **12**, 24–32 (2002).
- Leal, S. C., Oliveira, T. R. & Ribeiro, A. P. Do parents and children perceive molar-incisor hypomineralization as an oral health problem? *Int. J. Paediatr. Dent.*, in press (2017).
- Dantas-Neta, N. B. et al. Impact of molar-incisor hypomineralization on oral health-related quality of life in schoolchildren. *Braz. Oral Res.* **30**, e117 (2016).
- Laisi, S., Kiviranta, H., Lukinmaa, P. L., Vartiainen, T. & Alaluusua, S. Molar-incisor-hypomineralisation and dioxins: new findings. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **9**, 224–227 (2008).
- Jedeon, K. et al. Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol A. *Am. J. Pathol.* **183**, 108–118 (2013).
- Serna, C., Vicente, A., Finke, C. & Ortiz, A. J. Drugs related to the etiology of molar incisor hypomineralization: A systematic review. *J. Am. Dent. Assoc.* **147**, 120–130 (2016).
- Ghanim, A., Manton, D., Bailey, D., Marino, R. & Morgan, M. Risk factors in the occurrence of molar-incisor hypomineralization amongst a group of Iraqi children. *Int. J. Paediatr. Dent.* **23**, 197–206 (2013).
- Whatling, R. & Fearn, J. M. Molar incisor hypomineralization: a study of aetiological factors in a group of UK children. *Int. J. Paediatr. Dent.* **18**, 155–162 (2008).
- Laisi, S. et al. Amoxicillin may cause molar incisor hypomineralization. *J. Dent. Res.* **88**, 132–136 (2009).
- Wogelius, P. et al. Association between use of asthma drugs and prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in 6-to-8-year-old Danish children. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **38**, 145–151 (2010).
- Vieira, A. R. & Kup, E. On the Etiology of Molar-Incisor Hypomineralization. *Caries Res.* **50**, 166–169 (2016).
- Kuhnisch, J. et al. Genome-wide association study (GWAS) for molar-incisor hypomineralization (MIH). *Clin. Oral Investig.* **18**, 677–682 (2014).
- Jeremias, F. et al. Genes expressed in dental enamel development are associated with molar-incisor hypomineralization. *Arch. Oral Biol.* **58**, 1434–1442 (2013).
- Silva, M. J., Scurrah, K. J., Craig, J. M., Manton, D. J. & Kilpatrick, N. Etiology of molar incisor hypomineralization - A systematic review. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **44**, 342–353 (2016).
- Arrow, P. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. *Community Dent. Oral Epidemiol.* **37**, 405–415 (2009).
- Garot, E., Manton, D. & Rouas, P. Peripartum events and molar-incisor hypomineralisation (MIH) amongst young patients in southwest France. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **4**, 245–250 (2016).
- Crombie, F., Manton, D. & Kilpatrick, N. Aetiology of molar-incisor hypomineralization: a critical review. *Int. J. Paediatr. Dent.* **19**, 73–83 (2009).
- Ogden, A. R., Pinhasi, R. & White, W. J. Nothing new under the heavens: MIH in the past? *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **9**, 166–171 (2008).
- Curzon, M. E., Ogden, A. R., Williams-Ward, M. & Cleaton-Jones, P. E. Case report: A medieval case of molar-incisor-hypomineralisation. *Br. Dent. J.* **219**, 583–587 (2015).
- Kuhnisch, J. et al. Was molar incisor hypomineralisation (MIH) present in archaeological case series? *Clin. Oral Investig.* **9**, 1–7 (2016).
- McKay, S., Farah, R., Broadbent, J. M., Tayles, N. & Halcrow, S. E. Is it health or the burial environment: differentiating between hypomineralised and post-mortem stained enamel in an archaeological context. *PLoS One.* **8**, e64573 (2013).

35. Mansilla, J., Solis, C., Chavez-Lomeli, M. E. & Gama, J. E. Analysis of colored teeth from Precolumbian Tlatelolco: postmortem transformation or intravital processes? *Am. J. Phys. Anthropol.* **120**, 73–82 (2003).
36. Stermer, E. M., Risnes, S. & Fischer, P. M. Trace element analysis of blackish staining on the crowns of human archaeological teeth. *Eur. J. Oral Sci.* **104**, 253–261 (1996).
37. Garot, E. *et al.* Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context. *Arch. Oral Biol.* **74**, 28–36 (2017).
38. Turner-Walker, G. In *Advances in Human Palaeopathology* (eds Pinhasi, R. & Mays, S.) p. 11–15 (John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2007).
39. Fémolant, J.-M. Beauvais Caserne Taupin “Antenne Universitaire”, Bilan scientifique. *Service Régional de l’Archéologie de Picardie*, p. 48–50 (1992).
40. Beauval, C. *et al.* *Rapport d’opération de fouilles archéologiques Sains-en-Gohelle* (2012).
41. Garot, E. *et al.* Mineral density of hypomineralised and sound enamel. *Bull. Group. Int. Rech. Sci. Stomatol. Odontol.* **53**, 26–29 (2016).
42. Mahoney, E. K., Rohanizadeh, R., Ismail, F. S., Kilpatrick, N. M. & Swain, M. V. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials* **25**, 5091–5100 (2004).
43. Fearne, J., Anderson, P. & Davis, G. R. 3D X-ray microscopic study of the extent of variations in enamel density in first permanent molars with idiopathic enamel hypomineralisation. *Br. Dent. J.* **196**, 634–638, discussion 625 (2004).
44. Crombie, F. A. *et al.* Characterisation of developmentally hypomineralised human enamel. *J. Dent.* **41**, 611–618 (2013).
45. Farah, R. A., Swain, M. V., Drummond, B. K., Cook, R. & Atieh, M. Mineral density of hypomineralised enamel. *J. Dent.* **38**, 50–58 (2010).
46. Fagrell, T. G., Salmon, P., Melin, L. & Noren, J. G. Onset of molar incisor hypomineralization (MIH). *Swed. Dent. J.* **37**, 61–70 (2013).
47. Fagrell, T. Molar incisor hypomineralization. Morphological and chemical aspects, onset and possible etiological factors. *Swed. Dent. J. Suppl.* **5**, 11–83 (2011).
48. Ogden, A. R., Pinhasi, R. & White, W. J. Gross enamel hypoplasia in molars from subadults in a 16th–18th century London graveyard. *Am. J. Phys. Anthropol.* **133**, 957–966 (2007).
49. Jalevik, B., Noren, J. G., Klingberg, G. & Barregard, L. Etiologic factors influencing the prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in a group of Swedish children. *Eur. J. Oral Sci.* **109**, 230–234 (2001).
50. Beentjes, V. E., Weerheijm, K. L. & Groen, H. J. Factors involved in the aetiology of molar-incisor hypomineralisation (MIH). *Eur. J. Paediatr. Dent.* **3**, 9–13 (2002).
51. Souza, J. F. *et al.* Molar incisor hypomineralisation: possible aetiological factors in children from urban and rural areas. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **13**, 164–170 (2012).
52. Aminov, R. I. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Front. Microbiol.* **1**, 134 (2010).
53. Alaluusua, S. *et al.* Developmental dental defects associated with long breast feeding. *Eur. J. Oral Sci.* **104**, 493–497 (1996).
54. Fagrell, T. G., Ludvigsson, J., Ullbro, C., Lundin, S. A. & Koch, G. Aetiology of severe demarcated enamel opacities—an evaluation based on prospective medical and social data from 17,000 children. *Swed. Dent. J.* **35**, 57–67 (2011).
55. Clark, J. F. M. *The Burning Issue: Historical Reflections on Municipal Waste Incineration*. Vol. Short Report (AHRB Research Centre for Environmental History, 2003).
56. Leppaniemi, A., Lukinmaa, P. L. & Alaluusua, S. Nonfluoride hypomineralizations in the permanent first molars and their impact on the treatment need. *Caries Res.* **35**, 36–40 (2001).
57. Dietrich, G., Sperling, S. & Hetzer, G. Molar incisor hypomineralisation in a group of children and adolescents living in Dresden (Germany). *Eur. J. Paediatr. Dent.* **4**, 133–137 (2003).
58. Rochester, J. R. & Bolden, A. L. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environ. Health Perspect.* **123**, 643–650 (2015).
59. Vogel, S. A. The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a “safety”. *Am. J. Public Health* **99** (Suppl 3), S559–566 (2009).
60. Tapias-Ledesma, M. A. *et al.* Factors associated with first molar dental enamel defects: a multivariate epidemiological approach. *J. Dent. Child.* **70**, 215–220 (2003).
61. Lygidakis, N. A., Dimou, G. & Marinou, D. Molar-incisor-hypomineralisation (MIH). A retrospective clinical study in Greek children. II. Possible medical aetiological factors. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **9**, 207–217 (2008).
62. Pitiphat, W., Luangchaichaweng, S., Pungchanchaikul, P., Angwaravong, O. & Chansamak, N. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. *Eur. J. Oral Sci.* **122**, 265–270 (2014).
63. Ahmadi, R., Ramazani, N. & Nourinasab, R. Molar incisor hypomineralization: a study of prevalence and etiology in a group of Iranian children. *Iran. J. Pediatr.* **22**, 245–251 (2012).
64. Aine, L. *et al.* Enamel defects in primary and permanent teeth of children born prematurely. *J. Oral Pathol. Med.* **29**, 403–409 (2000).
65. Schaefer, M., Black, S. & Scheuer, L. In *Juvenile Osteology* 67–95 (Academic Press, 2009).
66. Chevalier, N. *Le cimetière du couvent des Sœurs Grises de Beauvais de la fin du XVe au XVIIIe siècle, Étude des pratiques funéraires* DEA thesis, University of Bordeaux (1993).
67. Liversidge, H. M. & Marsden, P. H. Estimating age and the likelihood of having attained 18 years of age using mandibular third molars. *Br. Dent. J.* **209**, E13 (2010).
68. Moorrees, C. F., Fanning, E. A. & Hunt, E. E. J. Formation and resorption of three deciduous teeth in children. *Am. J. Phys. Anthropol.* **21**, 205–213 (1963).
69. Elfrink, M. E., Veerkamp, J. S., Aartman, I. H., Moll, H. A. & Ten Cate, J. M. Validity of scoring caries and primary molar hypomineralization (DMH) on intraoral photographs. *Eur. Arch. Paediatr. Dent.* **10** (Suppl 1), 5–10 (2009).
70. Tourino, L. F. *et al.* Association between Molar Incisor Hypomineralization in Schoolchildren and Both Prenatal and Postnatal Factors: A Population-Based Study. *PLoS One.* **11**, e0156332 (2016).
71. Brook, A. H., Smith, R. N. & Lath, D. J. The clinical measurement of tooth colour and stain. *Int. Dent. J.* **57**, 324–330 (2007).
72. Watts, A. & Addy, M. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *Br. Dent. J.* **190**, 309–316 (2001).

## Acknowledgements

This work was supported by the Institut Français de Recherche Odontologique (IFRO) and the PRC CNRS-University of Melbourne (N°501911 GL). Thanks are due to Patrice Courtaud (CNRS, UMR 5199, PACEA, Bordeaux University) and Jean-Marc Fémolant (director of the Archeological Service of Beauvais) for access to the osteological series of the “Couvent des Soeurs Grises”. We gratefully acknowledge Frédéric Santos (CNRS, UMR 5199, PACEA, Bordeaux University) for his help with statistics. Nicolas Lenoir (PLACAMAT, UMS 3626-CNRS/Bordeaux University), Ronan Ledevin (LabEx LaScArBx, UMR 5199 PACEA/Bordeaux University), Yannick Lefrais (IRAMAT-CRP2A, UMR 5060) and the 19 anonymous MIH specialists are acknowledged for their contributions to the study. LaScArBx is a research programme supported by the ANR (ANR-10-LABX-52).

### Author Contributions

E.G., C.C.-V. and P.R. contributed to conception and design, drafted and critically revised the manuscript; D.J.M. and C.B. contributed to data interpretation and critically revised the manuscript for important intellectual content. All authors gave final approval and agree to be accountable for all aspects of the work.

### Additional Information

**Supplementary information** accompanies this paper at doi:10.1038/s41598-017-01745-w

**Competing Interests:** The authors declare that they have no competing interests.

**Publisher's note:** Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



**Open Access** This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2017

# Chapitre 6

## Discussion



*Notre travail comportait plusieurs objectifs intimement liés qui étaient : de caractériser l'émail hypominéralisé et l'émail coloré par taphonomie, d'établir et de tester un protocole permettant de faire la distinction entre une hypominéralisation et une coloration taphonomique, de préciser les étiologies des HMI en fonction de la découverte d'éventuelles HMI dans des séries archéologiques, d'apporter des données sur l'état sanitaire d'une population en lien avec les causes possibles des HMI et de mettre en place des «passerelles» entre différentes techniques de micro-analyse amélaire.*



# 1. Comparaison de nos données sur la caractérisation de l'émail hypominéralisé avec la littérature

---

## 1.1. MEB-EDX

Au sein d'un effectif de 11 dents présentant une HMI, 27 zones hypominéralisées ont été comparées à 7 zones saines. Probablement en raison du caractère chronophage et coûteux des analyses élémentaires telles que la MEB-EDX, très peu d'auteurs ont étudié les concentrations des différents éléments chimiques constituant l'émail hypominéralisé. À partir d'une revue de la littérature, nous avons précédemment mis en évidence que les résultats de ces auteurs étaient contradictoires et que les effectifs étudiés étaient relativement faibles (Tableau 5 ;  $1 < n < 17$ ). Parmi les 5 études proposées dans la littérature, notre effectif de dents HMI fait partie des deux plus importants avec celui de Jalevik *et al.* (2001b). Conformément aux précédentes études (Jalevik *et al.* 2001b, Jedeon *et al.* 2013), le ratio Ca/P apparaît significativement plus faible dans l'émail hypominéralisé que dans l'émail sain dans notre recherche ( $p=0,001$ ). Contrairement aux deux autres études ayant analysé d'autres éléments que le Ca et le P, nous avons mis en évidence des différences significatives en F, Na, Mg, Al, S et Sc (respectivement  $p=0,0001$  ;  $p=0,013$  ;  $p=0,001$  ;  $p=0,028$  ;  $p=0,038$  ;  $p=0,004$ ) (Jalevik *et al.* 2001b, Mahoney *et al.* 2004). Il faut noter qu'une de ces deux études n'a porté que sur une seule dent présentant une HMI (Mahoney *et al.* 2004). Dans le cas de cette anomalie de structure, la thérapeutique recommandée en l'absence de délabrement notoire consiste à appliquer régulièrement un vernis fluoré. La majorité des vernis sont à base de fluorure de sodium (comme par exemple le Duraphat<sup>MD</sup>, Colgate ou le MI varnish<sup>MD</sup>, GC). Nous supposons que la porosité de l'émail hypominéralisé confère une plus grande susceptibilité à l'incorporation de ces éléments et pourrait expliquer en partie les différences significatives en F et Na.

## 1.2. Spectroscopie Raman

A l'aide de notre échantillon constitué de 12 dents HMI, notre étude en spectroscopie Raman a montré que les ratios phosphate/ $\beta$ -carbonate étaient significativement plus faibles dans l'émail hypominéralisé ( $p=0,002$ ). Nos résultats ont confirmé l'étude précédemment publiée par Fraser *et al.* (2015) comprenant 3 dents HMI et qui a mis en évidence un ratio inversé  $\beta$ -carbonate/phosphate significativement plus élevé dans l'émail hypominéralisé ( $p < 0,001$ ).

Une autre étude réalisée à partir d'un effectif de 5 dents HMI en spectroscopie Raman a également rapporté une augmentation significative en  $\beta$ -carbonate et en hydrocarbures dans l'émail hypominéralisé par rapport à l'émail sain (Taube *et al.* 2015).

### 1.3. Microtomographie

À partir d'un effectif de 46 dents présentant une HMI, les analyses en microtomographie ont montré que la densité minérale de l'émail hypominéralisé (en 2D et en 3D) était significativement plus faible par rapport à l'émail sain (en moyenne  $10 \pm 4\%$  ;  $p < 0,001$ ). Plus la couleur de l'émail était foncée, plus sa densité minérale était faible dans notre échantillon. Au sein de l'émail hypominéralisé, la densité minérale diminuait de la JED jusqu'aux trois quarts externe de l'épaisseur de l'émail puis augmentait jusqu'à la surface de l'émail. En comparaison, dans l'émail sain, la densité minérale augmentait constamment de la JED jusqu'à la surface de l'émail. À l'exception d'une étude (Gambetta-Tessini *et al.* 2017), tous les travaux précédents portant sur la densité minérale comprenaient des effectifs relativement faibles de dents présentant une HMI ( $2 < n < 15$ ) et étaient tous basés sur des données en 2D (Fearne *et al.* 2004, Mahoney *et al.* 2004, Farah *et al.* 2010b, Fagrell 2011, Crombie *et al.* 2013, Fagrell *et al.* 2013). Ces études ont également montré que la densité minérale de l'émail hypominéralisé était plus faible que celle de l'émail sain. Farah *et al.* (2010b) ont réalisé des mesures sur des coupes en 2D de la JED à la surface de l'émail. Ils ont noté une augmentation de la densité minérale de l'émail hypominéralisé dans le premier quart à partir de la JED puis une diminution progressive jusqu'à la surface. Fearne *et al.* (2004) et Fagrell *et al.* (2013) ont également, à partir de leurs données 2D, retrouvé cette même allure de courbe. Farah *et al.* (2010c) ont étudié le lien entre la couleur de l'opacité et la densité minérale. Ces auteurs ont montré que plus l'opacité était foncée, plus la densité minérale était faible. À l'aide de témoins d'hydroxyapatites dont la densité minérale était connue, Gambetta-Tessini *et al.* (2017) ont calculé la densité minérale en 3D de l'émail hypominéralisé blanc-crème, jaune-brun et atteint par des fractures post-éruptives de l'émail de 22 dents atteintes de défauts de type HMI (respectivement  $DM = 1,78$  ; 1,58 et 1,56). Une diminution de la DM en fonction de la couleur et de la sévérité de l'atteinte a donc été mise en évidence (Gambetta-Tessini *et al.* 2017).

Nos résultats en 3D et 2D ont donc confirmé les études précédemment publiées et comprennent un effectif de dents HMI plus de deux fois supérieur à ceux précédemment étudiés. De nouvelles données en 3D ont également été apportées par notre étude.

## 1.4. Fluorescence X

À partir d'un échantillon de 10 dents affectées par une HMI, les analyses en fluorescence X n'ont pas mis en évidence de différence significative dans les ratios de Ca/P et dans les concentrations relatives en Mn, Fe, Cu, Zn, Sn et le Pb entre l'émail hypominéralisé et l'émail sain. Aucune autre étude utilisant cette technique pour analyser des dents affectées par une HMI n'a été recensée dans la littérature. Cette technique a été utilisée à quelques reprises pour étudier l'impact d'agents de déminéralisation (par exemple : les boissons sucrées) ou d'agents de reminéralisation (par exemple : un vernis fluoré) sur de l'émail. Les auteurs se sont intéressés à la comparaison des ratios Ca/P entre l'émail sain, l'émail déminéralisé ou l'émail reminéralisé (Matsunaga *et al.* 2009, Brito *et al.* 2016, Savas *et al.* 2016). Très récemment, cette technique a également été utilisée dans l'étude de l'émail d'un patient atteint d'amélogenèse imparfaite (Lignon *et al.* 2017). Les données XRF ont révélé une composition élémentaire (en Ca et P) similaire pour les deux échantillons, sain et affecté (Lignon *et al.* 2017). De plus amples investigations avec un effectif plus important mériteraient d'être menées car la fluorescence X est une technique relativement rapide, non destructive et moins coûteuse que l'exploration par MEB-EDX. Cependant, elle ne permet pas d'étudier des éléments chimiques légers tels que le C, dont le numéro atomique Z est inférieur à 9 (Rouessac *et al.* 2004b).

## 1.5. Conclusion

Une variété de techniques ont été utilisées pour étudier l'émail hypominéralisé (MEB, micro/nano-indentation, microtomographie, MEB-EDX, XRMA, SIMS ...). La plupart des études ont remarqué une diminution des propriétés de l'émail hypominéralisé (dureté, module d'élasticité, densité minérale). La plus grande différence entre l'émail sain et l'émail hypominéralisé se situait entre la moitié et le quart externe de la profondeur de l'émail. À l'exception de l'étude de Jalevik et Noren (2000), la taille des échantillons était relativement faible (en moyenne de 10 dents HMI), probablement en raison du faible nombre de dents présentant une HMI extraites dans la pratique quotidienne de la chirurgie-dentaire. De plus, les dents extraites sont souvent trop endommagées pour l'observation d'opacités résiduelles. A ce jour, notre étude propose le plus grand échantillon de dents étudié et publié. Très récemment une revue systématique de la littérature évaluant les propriétés de l'émail hypominéralisé a été publiée, ses auteurs ont inclus 22 études (Elhennawy *et al.* 2017). Nos conclusions sont confirmées par cette dernière étude incluant par ailleurs l'une de nos publications portant sur la densité minérale (Garot *et al.* 2016b).

## 2. Comparaison de nos données sur la caractérisation de l'émail coloré par taphonomie avec la littérature

---

A partir d'un effectif de 9 dents colorées taphonomiquement, notre étude en XRF a montré que la concentration augmentait au sein de ces colorations en Mn, Cu, Fe, Sr et Pb. Le Sr a été exclu en raison de sa faible variation entre l'émail coloré et non coloré et de l'absence de littérature démontrant le potentiel de coloration brune du Sr. Des auteurs ont également rapporté que les concentrations en Cu et en Pb pouvaient augmenter dans l'émail coloré par taphonomie (Watts et Addy 2001, Brook *et al.* 2007). Mansilla *et al.* (2003) ont observé 1592 dents d'individus datant de la période précolombienne (1340-16<sup>ème</sup> siècle, Mexique). Ils ont comptabilisé 342 dents (21,48%) qui présentaient des colorations brunes et 74 (4,65%) des colorations bleues. Les concentrations en Fe, Mn, Sr et Zn ont été mesurées pour 35 dents à l'aide de la technique PIXE (*Particle Induced X-ray Emission*). Les profils d'analyse PIXE montrent que par rapport aux zones blanches et saines, les taches brunes étaient riches en Mn, Fe et Sr. Ces auteurs ont mis en évidence que les germes dentaires des dents déciduales (non éruptées) présentaient des concentrations plus élevées en Mn, Sr et Fe que les dents déciduales qui elles-mêmes avaient des concentrations de ces éléments plus élevées que les dents permanentes. Les dents à l'état de germe, de par leur porosité augmentait, incorporeraient donc plus d'éléments. *A contrario*, le taux de Zn restait stable (Mansilla *et al.* 2003). Nos résultats confirment également cela. Ces derniers auteurs suggèrent que les taches brunes sur les dents étaient des modifications superficielles dues à l'interaction de l'émail avec le sol et les eaux souterraines.

Les oxydes libres de Fe et de Mn proviendraient soit du sol par l'intermédiaire du phénomène de gleyification, soit de matériaux disposés dans la sépulture à condition que le potentiel de réduction soit suffisamment élevé pour la précipitation de ces éléments (Mansilla *et al.* 2003). La gleyification correspond à un appauvrissement en oxygène et à une augmentation en Fe et en Mn dans le sol due à l'absence de drainage (Zaidel'man *et al.* 2009). Selon d'autres auteurs, ces colorations dentaires ne seraient pas d'origine sédimentaire car d'une part les dents saines ont été conservées dans le même milieu et d'autre part les analyses des

eaux souterraines du site archéologique de leur étude indiquent une teneur élevée en chlorures et en sulfates, mais non en Fe et de Mn. Les auteurs n'apportaient cependant pas d'explications à ces colorations (Rodríguez-Fernández *et al.* 1999).

Des auteurs ont observé des colorations brunes sur 9 dents déciduales qui ont été recueillies à partir de sépultures d'enfants issues du site préhistorique de Ban Non Wat (3800-1500BP), situé dans la vallée de la Haute-Mun dans le nord-est de la Thaïlande (McKay *et al.* 2013). Ils se sont alors interrogés sur leurs causes et ont ainsi réalisé une étude microtomographique afin de savoir si ces colorations étaient d'origine pathologique ou taphonomique. L'étude en microtomographie a permis de calculer la densité minérale de ces colorations dans les tiers interne, médian et externe. Les auteurs ont conclu que l'absence de différence significative entre l'émail coloré et l'émail non coloré permettait d'exclure le diagnostic d'hypominéralisation. Le fait que le site de sépulture ait été inondé de manière saisonnière par les précipitations est l'une des hypothèses avancée par les auteurs pour expliquer la diminution de la densité minérale de l'émail de surface et l'absorption accentuée de minéraux colorant l'émail (McKay *et al.* 2013). Dans notre échantillon de dents colorées par taphonomie issues de Jau-Dignac-et-Loirac (JAU\_152 et JAU\_2001), nous sommes également en présence d'un site qui a été partiellement inondé ce qui pourrait confirmer cette hypothèse.

Des auteurs se sont intéressés un peu plus précisément aux processus qui interviennent dans le cas d'une contamination provenant du sol d'enfouissement. Le manganèse ne se trouve pas sous sa forme libre dans la nature (Rutley 1916). Les oxydes et les sels de minéraux sont les principales sources de Mn (Johnson *et al.* 2016). Leur couleur est décrite comme étant d'un noir bleuâtre avec un aspect métallique. Les auteurs ont supposé que la coloration noirâtre sur les dents de Trondheim (époque médiévale, Norvège) serait due à de l'oxyde de manganèse (Stermer *et al.* 1996). Dans une précédente étude, ces mêmes auteurs ont évoqué la difficulté d'attribuer ces colorations à des colorations dues au sol d'enfouissement car quelques colorations étaient présentes sous des dépôts tartriques fixés sur les surfaces dentaires. Les tests statistiques de leur étude n'ont pas pu établir de lien significatif entre la présence de colorations à la fois sur la mandibule et sur les dents (Stermer Beyer-Olsen et Risnes 1993). Ils ont évoqué plusieurs possibilités dont celle d'une mastication *in vivo* d'un matériau ou d'un aliment colorant l'émail (Stermer Beyer-Olsen et Risnes 1993). Ce n'est que quelques années *a posteriori* avec l'analyse en SIMS qu'ils ont pu finalement mettre en évidence l'augmentation de Mn dans ces colorations brunes (Stermer *et al.* 1996).

Cependant la première hypothèse énoncée par ces derniers auteurs est intéressante (Stermer Beyer-Olsen et Risnes 1993). En effet des cas de colorations dentaires dans des séries archéologiques dues à une mastication ou à un contact prolongé avec de la noix de Bétel ont été rapportés (Oxenham *et al.* 2002). L'analyse chimique des taches brun-rouge présentes sur les dents de 31 individus datant de l'âge du Bronze (Vietnam) a permis de confirmer la présence d'un tanin caractéristique de la noix de Bétel (Oxenham *et al.* 2002). En l'absence de colorations dues à un élément du sol d'enfouissement ou d'un phénomène pathologique tel que les HMI, une origine tannique pourrait être recherchée par une analyse chimique.

Dans la plupart des études publiées, les techniques utilisées étaient destructives ce qui reste un inconvénient majeur dans le cadre de la préservation de spécimens archéologiques. Cette étude relativement récente en est un exemple : l'analyse en MEB-EDX d'une dent atteinte par des colorations noires appartenant à un crâne daté de l'époque romaine (Angleterre) montrait des niveaux très élevés de Mn (275µg/g) et de Fe (1540µg/g) par rapport aux valeurs des dents récentes (1,90µg/g de Mn et 40,81µg/g de Fe). Ces concentrations correspondaient à la coloration noire résultant de l'infiltration de Fe et de Mn dans les tissus dentaires et osseux de l'environnement de dépôt, et non pas une conséquence d'un régime alimentaire, d'un processus pathologique ou de pratiques culturelles (Brown *et al.* 2014). Nous pensons cependant que la technique par XRF que nous avons utilisé dans notre étude aurait pu de manière non-destructive apporter également ces éléments de réponse.

L'analyse à partir de coupes histologiques de dents colorées par du Mn a permis de mettre en évidence que dans certains cas, la coloration était limitée à une couche mince et superficielle de l'émail mais que dans d'autres cas, la coloration avait pénétré plus profondément dans l'émail (Stermer *et al.* 1996). L'incorporation d'éléments a même été observée dans la dentine, en particulier dans les zones où l'émail a été éliminé (Stermer *et al.* 1996). Steadman *et al.* (1959) ont confirmé le fait que la partie externe de l'émail concentrait une plus grande partie d'oligo-éléments que la partie interne de l'émail. Cependant, pour ces auteurs, il y avait peu de pénétration des oligo-éléments dans la masse de la structure dentaire, même pour les dents datant de plus de 5000 ans (Steadman *et al.* 1959). En analysant donc uniquement la surface de nos dents, nous nous assurons d'évaluer les plus grandes concentrations possibles d'éléments susceptibles de colorer ces dents.

Une distinction dans la couleur des taches décrites dans ces séries archéologiques peut être notée. En effet, certains auteurs ont décrit la présence de taches noires et d'autres de taches plutôt brunes. Dans notre étude, aucune tache noire n'a été recensée. Nous n'avons pas trouvé de référence comprenant un échantillon suffisamment conséquent de dents présentant différentes couleurs de taches (jaunes, brunes et noires) dont les compositions en Mn, Cu, Fe et Pb avaient été comparées. De plus amples investigations dans ce domaine seraient nécessaires pour appréhender au mieux la part de chaque élément dans le type de couleur.

## 3. Guide de diagnostic et considérations méthodologiques

---

Le but de notre travail était de proposer un guide permettant aux chercheurs de différencier une hypominéralisation d'une coloration taphonomique avec une fiabilité optimale.

### 3.1. Choix justifié des techniques d'analyse

En raison des résultats contradictoires des analyses en MEB-EDX et du caractère destructif de cette technique, elle n'a pas été sélectionnée. La fluorescence X, quant à elle, est une technique rapide (durée d'acquisition estimée à 15 minutes pour une dent), simple et qui semble être fiable. Cependant, une de ses limites est qu'elle ne peut pas détecter les éléments légers (numéro atomique  $Z$  inférieur à 5) (Rouessac *et al.* 2004b). De plus, en fonction des appareils, l'analyse par XRF est peu fiable pour étudier la composition des éléments dont les  $Z$  sont de 6, 7, 8, 9. Le carbone ( $Z=6$ ), par exemple, n'a pas été étudié pour cette raison. Concernant les éléments recherchés dans les colorations taphonomiques, ils présentaient tous des numéros atomiques supérieurs à 9 ce qui nous permettait de contourner cette limite.

Nous avons également cherché une technique d'analyse qui permettrait de caractériser l'émail hypominéralisé. L'avantage de la spectroscopie Raman est sa rapidité de préparation de l'échantillon et d'acquisition des données (estimée à 15 minutes par dent) par rapport à la microtomographie d'une dent (estimée à 1h30 pour une résolution de  $7\mu\text{m}^3$ ). Néanmoins, la spectroscopie Raman ne permet pas d'étudier l'émail dans sa profondeur sans coupe histologique préalable. Le meilleur rapport signal-bruit (spectre) que nous ayons obtenu est à  $20\mu\text{m}$  de profondeur. Au-delà, le signal est moindre. Seules des analyses de surface et de subsurface sont donc possibles avec la spectroscopie Raman. Or, nous avons vu que dans le cas des HMI, l'émail le plus atteint se trouvait dans la profondeur de l'émail (3<sup>ème</sup> quart externe en partant de la JED). La microtomographie serait donc un outil plus intéressant mais plus chronophage. Le traitement des données microscannées est également plus long car nous avons réalisé une réorientation des coupes. Cependant, ce traitement permettait également d'augmenter la fiabilité des analyses en comparant des densités minérales mesurées à une hauteur coronaire identique et selon un protocole reproductible (en se basant sur la ligne des collets). La reproductibilité et la fiabilité de ce protocole ont été préalablement testées (Olejniczak et Grine 2006, Olejniczak *et al.* 2007). Lors de l'acquisition des données en

spectroscopie Raman, un inconvénient est survenu lors de l'analyse des dents archéologiques résultant du phénomène de fluorescence dû à l'incrustation/incorporation d'éléments sédimentaires dans l'émail. Malgré notre protocole de sonification des dents, certains spectres ont subi ce phénomène affectant la lisibilité et la fiabilité des mesures.

Le croisement des données issues de la spectroscopie Raman et de la microtomographie ont permis de mettre en évidence que sur les 16 dents testées avec ces deux techniques, 5 présentaient des diagnostics de HMI différents. Une technique ne semblait pas être plus sensible que l'autre. La non significativité d'un résultat peut également être expliquée par la sensibilité plus faible d'un test statistique à détecter une hypothèse vraie.

### 3.2. Méthodes d'analyse

Nous avons précédemment évoqué le fait que notre méthode de traitement des coupes microtomographiques permettait de réaliser des comparaisons des données à la même hauteur coronaire et sur une même dent. En effet, il existerait des variations de composition élémentaire de l'émail à la fois entre les individus, au sein d'un même individu, mais également en fonction de la localisation sur une même dent (Simmons *et al.* 2013, Akkus *et al.* 2016). Il nous paraît donc primordial de réaliser ces mesures à la même hauteur coronaire parallèlement à la ligne du collet car la formation de l'émail débute au niveau des cuspides puis se dirige vers la ligne cervicale (Nanci et Goldberg 2001). Les analyses en spectroscopie Raman et en fluorescence X sont réalisées à la surface de la dent. Dans le cas de colorations intéressant une surface dentaire entière, il est donc nécessaire de changer la position de la dent afin de trouver une zone saine. Cette étape inclue donc une perte de fiabilité dans l'exactitude de la prise de mesure. Toutefois, dans la majorité des cas, les mesures étaient réalisées au niveau de 2 zones adjacentes, saine et colorée, sans modifier la position de la dent sur le support d'analyse.

### 3.3. Interprétation des résultats

Nous avons montré que notre méthode permettait de diagnostiquer une hypominéralisation de l'émail, mais est-ce qu'une hypominéralisation est un signe pathognomonique de HMI ? Par exemple, dans le cas d'une amélogenèse imparfaite (AI) de type hypominéralisé, l'émail est caractérisé par une diminution de la minéralisation (Wright *et al.* 1993). Une augmentation de la teneur en carbonate a également été mise en évidence dans les AI (Shore *et al.* 2002, Sa *et al.* 2014). *A contrario*, Wright *et al.* (1993) ont trouvé des taux identiques de carbonate dans l'AI et l'émail normal (Wright *et al.* 1993). Néanmoins, ce défaut

peut se différencier des HMI par des critères visuels, car l'AI est d'origine génétique et se caractérise par une atteinte de la surface entière de la couronne dentaire et de toute la denture (Crawford *et al.* 2007). En revanche, dans le cas des HMI, seules des opacités sur les premières molaires permanentes et éventuellement sur les incisives sont enregistrées (Weerheijm *et al.* 2003). Néanmoins, dans le cas où les seuls restes dentaires d'un individu sont les premières molaires permanentes, il est en effet difficile de faire une distinction entre une HMI et une AI de types hypominéralisé ou hypomature. Ainsi, dans le cas où la couronne de la dent est entièrement colorée et seules les premières molaires permanentes sont présentes, nous ne pouvons pas différencier une HMI d'une AI avec la microtomographie et la spectroscopie Raman. Même si cette situation est rare, d'autres études mériteraient d'être menées, notamment pour savoir si la densité minérale de l'émail hypominéralisé dans le cas d'une AI est constante de la JED à la surface ou si, comme dans le cas des HMI, la diminution de la DM est plus importante dans le quart externe de la dent.

## 4. Découverte et prévalence des HMI dans les populations du passé : Quelles implications ?

---

### 4.1. Prévalence des HMI dans les séries archéologiques

Dans nos séries archéologiques françaises, parmi les 111 individus dont au moins une des PMP était observable, 29 individus présentaient des colorations (soit 26,1% des individus) dont 21 avaient au moins une coloration délimitée sur une PMP (soit 18,9% des individus). Dans les séries archéologiques issues du *Museum* de Londres, parmi les 179 individus avec au moins une PMP, 44 (24,6%) présentaient une coloration sur au moins une PMP et 21 avaient une opacité délimitée sur au moins une PMP (soit 11,7%).

Au total, sur les 290 individus avec au moins une PMP que nous avons observés, 42 avaient au moins une opacité délimitée sur une PMP (soit 14,5%). **Si nous nous basons uniquement sur les critères de diagnostic de l’HMI de l’EAPD, nous pourrions conclure que dans l’ensemble de nos séries archéologiques, 14,5% des individus seraient affectés par l’HMI.** Cette prévalence se rapproche des prévalences européennes à savoir par exemple 14,7% et 10,1% en Allemagne (Heitmüller *et al.* 2013, Petrou *et al.* 2015), 21,8% en Espagne (García-Margarit *et al.* 2014) et 15,9% en Angleterre (Balmer *et al.* 2012). Si nous comparons nos résultats à ceux publiés par les précédents auteurs ayant calculé la prévalence des HMI dans les populations du passé, nous constatons que nos résultats sont très éloignés de ceux de Ogden *et al.* (2008) qui avaient estimé une prévalence de 93,2% de HMI dans la série de Broadgate comprenant 45 individus. Nous avons précédemment montré que dans cette même série londonienne, nous avons trouvé une prévalence de 27,2% d’individus présentant une coloration sur au moins une PMP et 22,7% d’individus présentant au moins une opacité délimitée, cela uniquement sur des critères visuels. Dans une précédente étude, les auteurs ont publié des résultats portant sur ces mêmes individus et diagnostiqué 93,2% d’hypoplasies (Ogden *et al.* 2007). Ces hypoplasies ont *a posteriori* été réattribuées à des HMI (Ogden *et al.* 2007, 2008). Des défauts présents sur des molaires déciduales ont été diagnostiqués comme étant des HMI alors que la définition des HMI inclut uniquement des hypominéralisations sur des dents permanentes. Des hypominéralisations sur des secondes molaires déciduales correspondent à des HSPM (*Hypomineralised Second Primary Molars*) (Elfrink *et al.* 2008).

Les HSPM sont considérées comme un facteur prédictif de HMI (Elfrink *et al.* 2015, Mittal et Sharma 2015, Negre-Barber *et al.* 2016). Cette prévalence de 22,7% reste tout de même plus élevée que les 14,5% de potentielles HMI que nous avons recensées en incluant la totalité des séries archéologiques. L'un des critères avancé par Ogden et ses collaborateurs pour expliquer cette différence est que la ville de Londres durant la période du 16<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> siècles souffrait d'une pollution accrue, la plongeant alors dans une atmosphère obscure. Les enfants pouvaient alors présenter un déficit en vitamine D qui est synthétisée grâce aux rayons ultraviolets. Une autre des hypothèses étiologiques évoquée par Ogden est l'industrialisation, qui serait associée à une malnutrition, un mauvais état de santé et une petite taille (Floud et Wachter 1982). Au cours de la révolution industrielle, les grandes villes européennes sont devenues un carrefour pour des personnes issues de diverses origines géographiques et socio-économiques. À Londres, la distinction entre riches et pauvres s'est intensifiée au cours de la première partie du 17<sup>ème</sup> siècle (Ogden *et al.* 2008).

D'autres auteurs se sont également intéressés à la prévalence des HMI dans les populations du passé. Les chiffres de prévalence sont bien inférieurs à ceux d'Ogden et de notre étude. Ainsi, Kuhnisch *et al.* (2016) rapportaient une prévalence de HMI de 3,1% parmi des collections archéologiques des époques médiévale (n=191, 12<sup>ème</sup>-16<sup>ème</sup> siècles, Regensburg, Allemagne), moderne (n=33, 16<sup>ème</sup>-18<sup>ème</sup> siècles, Passau, Allemagne) et contemporaine (n=99, 19<sup>ème</sup>-20<sup>ème</sup> siècles, Altdorf, Allemagne). Il est raisonnable de supposer qu'en raison de la prévalence élevée de lésions carieuses, de pertes *ante-mortem*, de tartre et de l'usure dentaire sur les PMP dans les populations historiques (Vodanovic *et al.* 2005, Esclassan *et al.* 2009, Lucas *et al.* 2010, Novak 2015) et d'un effectif majoritairement composé d'adultes de 21 ans à plus de 60 ans (91% ; 305/336 sujets), la prévalence de l'HMI dans cette étude était sous-estimée (Kuhnisch *et al.* 2016). De plus, une revue systématique a mis en évidence une association significative entre HMI et caries (Americano *et al.* 2017). Ces caries pourraient détruire les lésions d'hypominéralisations ou être un facteur causal de perte *ante-mortem* des PMP. Au sein de la série de Broadgate, parmi notre échantillon de 6 jeunes adultes, 8 pertes *ante-mortem* de PMP ont été observées contrairement au groupe d'immaturs (n=45) dans lequel aucune perte *ante-mortem* des PMP n'a été enregistrée.

Notre étude a montré que des opacités délimitées de l'émail, même si leurs apparences sont similaires à des hypominéralisations, peuvent être induites par un processus taphonomique. Ainsi, en appliquant notre guide de diagnostic sur les 22 opacités délimitées analysées, 14 étaient des hypominéralisations (soit 63,6%). Parmi les 14 individus dont les dents ont été analysées et présentaient au moins une opacité délimitée sur une PMP, les tests statistiques ont mis en évidence 9 cas de HMI, soit 64,3% de l'effectif. Par ailleurs, un cas de HSPM a également été diagnostiqué. S'agissant des premiers cas avérés de HMI et de HSPM dans des populations du passé, ils ont pu être valorisés par une publication internationale (Garot *et al.* 2017a).

Nous pourrions donc supposer que parmi nos 42 individus présentant une opacité délimitée sur au moins une PMP, seuls deux tiers d'entre eux auraient une HMI. **Dans cette hypothèse, la prévalence au sein du groupe de 290 individus serait alors de 9,3%.** Cette prévalence se rapprocherait de celle d'une des études comptant à ce jour le plus grand effectif d'enfants examinés, à savoir 8,7% de HMI parmi un échantillon de 6161 enfants vivant aux Pays-Bas (Elfrink *et al.* 2012).

## 4.2. Les hypothèses étiologiques des HMI

La prévalence des HMI dans la population actuelle varie de 3,6% à 37,3% en Europe (Kukleva *et al.* 2008, Wogelius *et al.* 2010). Celle que nous avons retrouvée dans notre échantillon archéologique est comprise dans cet intervalle. Les facteurs qui seraient donc à l'origine de ces HMI seraient présents depuis plusieurs siècles et leurs contributions dans le développement des HMI ne sembleraient pas avoir augmenté.

***Quelles conclusions pouvons-nous donc en tirer sur la trentaine d'hypothétiques facteurs des HMI évoqués dans la littérature ?***

La dernière revue systématique en date portant sur les hypothèses étiologiques des HMI (Silva *et al.* 2016) a recensé seulement 4 études prospectives (Alaluusua *et al.* 1996a, Alaluusua *et al.* 1996b, Laisi *et al.* 2008, Kuhnisch *et al.* 2014a). Trois d'entre elles portaient sur les dioxines (Alaluusua *et al.* 1996a, Alaluusua *et al.* 1996b, Laisi *et al.* 2008) et se révélaient être contradictoires et cela même entre deux études de mêmes auteurs (Alaluusua *et al.* 1996a, Alaluusua *et al.* 1996b). D'après l'étude de Kuhnisch *et al.* (2014a), il semblerait y avoir une

association entre la survenue des HMI et les maladies respiratoires, mais les auteurs ne se prononçaient pas sur l'origine des HMI à savoir les maladies ou les traitements associés.

Un grand nombre d'études rétrospectives ont été réalisées sur les hypothèses étiologiques des HMI (Silva *et al.* 2016). Un des biais majeurs de ce type d'étude est que la collecte des données est réalisée à partir des souvenirs subjectifs des patients. Cependant, dans une précédente étude, nous avons tenté de minimiser ce biais en nous basant sur les données inscrites dans le carnet de santé des enfants (Garot *et al.* 2016a).

En ce qui concerne les polluants environnementaux tels que les dioxines et leurs dérivés, leur existence est chronologiquement consécutive à la période médiévale. Les premiers incinérateurs permettant l'élimination des déchets ont été construits à Nottingham par Manlove *et al.* en 1874 et brevetés par Albert Fryer (Tableau 57). Ils étaient à l'origine connus sous le nom de « *destructors* » (Clark 2003).

Parmi les bisphénols qui sont encore aujourd'hui utilisés dans de nombreux produits non-alimentaires, la commercialisation du BPA en France date de 1950 (Vogel 2009). Elle est également postérieure à la période médiévale. À l'heure actuelle, aucune étude prospective ou rétrospective n'a évalué son implication dans la survenue de l'HMI dans les populations humaines. Seule une étude expérimentale a évoqué un possible lien (Jedeon *et al.* 2013). Néanmoins, il faut noter que depuis 2010, le BPA est interdit en France dans les biberons et depuis 2015 dans tout contenant alimentaire. Cependant, ces BPA ont été remplacés par des bisphénols (BPs) analogues, comme les BPS et les BPF (Rochester et Bolden 2015). Leur commercialisation étant encore plus récente que les BPA, ils ne seraient donc pas à l'origine des HMI des individus de notre étude.

D'autres facteurs sont également incriminés dans la littérature comme la prise fréquente de médicaments durant les premières années de vie (*confer* chapitre 2 §2.5.). La pénicilline a été découverte à Londres en Septembre 1928 par Alexander Fleming. Le protocole de l'équipe dirigée par Howard Florey et Ernst Chain a conduit à la production et à la distribution en masse de la pénicilline en 1945 (Aminov 2010). L'érythromycine et la céphalosporine ont été respectivement commercialisées par la société pharmaceutique Eli Lilly & Co en 1953 et 1964 (Murphy 1962, Bo 2000, Foye *et al.* 2008). Les antibiotiques ne seraient donc pas des facteurs responsables des HMI dans notre échantillon.

D'autres médicaments ont également été incriminés comme les glucocorticoïdes, notamment prescrits chez les jeunes enfants dans les cas de pathologies respiratoires comme l'asthme par exemple. La compréhension du rôle capital des glandes surrénales dans le bon fonctionnement de l'organisme date du milieu des années 1800. Durant cette période, l'anglais Thomas Addison décrit une pathologie induite par des lésions de ces glandes et pouvant conduire au décès (Thorn *et al.* 1951). Le nom de maladie d'Addison est alors donné à la maladie correspondant à une insuffisance de production d'hormones par les glandes surrénales. En 1896, William Osler montre qu'on peut traiter des patients souffrant de la maladie d'Addison en leur donnant des extraits frais de glandes surrénales provenant d'animaux (Thorn *et al.* 1951). La recherche concernant le rôle des hormones sécrétées par les glandes surrénales se développe très nettement au début du 20<sup>ème</sup> siècle. C'est aux États Unis qu'en 1933 une équipe constituée de chimistes (E.C. Kendall et T. Reichstein) et d'un médecin (P.S. Hench) parvient à isoler plusieurs hormones parmi lesquelles figure le cortisol à partir d'extraits de glandes surrénales animales. En 1948, ils synthétisent de la cortisone et découvrent qu'elle est bénéfique dans le soulagement des symptômes de la polyarthrite rhumatoïde. Les travaux sont poursuivis et d'autres patients sont traités durant plusieurs mois grâce au cortisol avec des résultats remarquables. Bien que les patients ne guérissent pas, leurs symptômes disparaissent dans la majorité des cas (Julian *et al.* 1956, Glyn 1998). Malgré quelques échos péjoratifs concernant les effets indésirables de ce traitement, les médecins et chimistes à l'origine de ces travaux (Kendall, Reichstein et Hench) reçoivent en 1950 le prix Nobel de médecine et de physiologie pour leurs découvertes (Glyn 1998). Au cours des années 1950, les indications de la corticothérapie se sont élargies. Ce traitement n'est plus exclusivement réservé aux patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde mais commence à être prescrit pour de nombreuses autres pathologies avec succès. L'autorisation de mise sur le marché de la prednisone (par exemple le Cortancyl<sup>MD</sup>) date de 1955 et cette autorisation concerne actuellement plus d'une centaine de maladies (Lichtman 2012).

D'autres hypothèses étiologiques ont été évoquées dans la littérature et seraient donc à privilégier car compatibles chronologiquement avec la présence d'HMI dans les populations du passé. Ainsi, un grand nombre d'étude a établi un lien entre des problèmes *per-partum* (hypoxie, césarienne, accouchement prolongé...) et la survenue des HMI (Lygidakis *et al.* 2008b, Whatling et Fearn 2008, Ahmadi *et al.* 2012, Ghanim *et al.* 2013, Pitiphat *et al.* 2014a, Garot *et al.* 2016a). En accord avec certaines études (Ahmadi *et al.* 2012, Ghanim *et al.* 2013, Pitiphat *et al.* 2014a), des auteurs ont recensé les problèmes médicaux rencontrés le plus

souvent pendant cette période *per-partum* : un accouchement long et compliqué (9,4%), un accouchement par césarienne (25,5%), une naissance prématurée (8%), une naissance gémellaire (16,6%) et une hémorragie de la délivrance (0,5%) (Lygidakis *et al.* 2008b). Cependant, certains auteurs n'ont pas trouvé d'association entre les problèmes *per-partum* et l'apparition de HMI (Dietrich *et al.* 2003, Whatling et Fearn 2008, Brogardh-Roth *et al.* 2011). Brogardh-Roth *et al.* ont rapporté qu'il n'y avait aucune association entre l'accouchement par césarienne et l'apparition de HMI (Brogardh-Roth *et al.* 2011). Cependant, cette étude a examiné uniquement des enfants prématurés, incorporant un biais en sélectionnant un type spécifique d'accouchement (par césarienne). Une étude allemande (n=31 patients atteints de HMI) n'a pas montré de différence significative entre le taux de complications pendant la naissance et l'HMI, mais les critères incluant les complications périnatales n'étaient pas clarifiés dans l'article (Dietrich *et al.* 2003). Dans une des rares études prospectives publiées à ce jour, Fagrell *et al.* n'ont trouvé aucune corrélation entre les complications néonatales (de la naissance à 1 mois) ou le type d'accouchement et l'apparition de HMI (Fagrell *et al.* 2011). Les critères utilisés pour définir les complications néonatales dans cette étude n'incluaient pas de critères tels que le travail prolongé (>24h), les mises sous ventilations assistées et les complications maternelles utilisés dans d'autres études (Lygidakis *et al.* 2008b, Ghanim *et al.* 2013, Pitiphat *et al.* 2014a). Ces différents résultats s'expliqueraient par une étiologie multifactorielle (Weerheijm 2015) et nous pouvons supposer que ces facteurs peuvent varier en fonction des différents systèmes de santé des pays.

En tenant compte de ces hypothèses, des différences de prévalence de HMI entre des groupes distincts d'individus pourraient également être le reflet d'inégalités d'état de santé entre les sexes ou les catégories sociales. Une prévalence élevée de HMI dans une série archéologique pourrait être le signe d'un état sanitaire précaire en lien avec des difficultés survenant lors de l'accouchement, des carences alimentaires ou des infections survenant lors de la première année de vie de l'enfant. Un point important à souligner dans notre étude est que nous avons examiné des enfants qui sont morts avant l'âge de 18 ans, ce qui laisse présager d'un mauvais état de santé de ces individus en dehors d'un contexte de crise de mortalité. Le facteur causal des HMI se produit pendant la période de minéralisation de la première molaire permanente (entre la naissance et les 2 ans de l'enfant en moyenne selon Moorrees *et al.* (1963a)). Nous pouvons supposer qu'un groupe d'enfants qui serait élevé dans un contexte sanitaire défavorable aurait une prévalence de HMI plus élevée que l'ensemble de la population. *A contrario*, l'examen d'un groupe d'adultes entraîne une sous-évaluation de la prévalence des HMI en raison de

l'impossibilité d'observer des colorations qui auraient disparues à cause de la maladie carieuse, de l'usure dentaire ou encore de pertes *ante-mortem* de ces dents.

Le type d'étude qui inclurait le moins de biais pour estimer la prévalence des HMI porterait sur l'examen d'un grand nombre d'enfant âgés de 6 à 18 ans morts des suites d'un évènement meurtrier fulgurant et non sélectif appelé « crise de mortalité » (par exemple un massacre, une catastrophe naturelle ou une épidémie) frappant indistinctement les individus des deux sexes, de tous âges et de toutes conditions sanitaires (Blaizot et Castex 2005).

Hypothèses étiologiques	Découverte	Commercialisation	Références	Étiologies chronologiquement compatibles	Étiologies compatibles avec la maturation des PMP
Bisphénol A	-	1950	(Vogel 2009)	Rejetée	Acceptée
Céphalosporine	1948	1964	(Bo 2000, Foye <i>et al.</i> 2008)	Rejetée	Acceptée
Érythromycine	1949	1953	(Murphy 1962)	Rejetée	Acceptée
Pénicilline	1928	1945	(Aminov 2010)	Rejetée	Acceptée
Dioxine (incinération)	1874	-	(Clark 2003)	Rejetée	Acceptée
Glucocorticoïdes	1933	1955	(Lichtman 2012)	Rejetée	Acceptée
Prédisposition génétique	-	-	-	Acceptée	Acceptée
Hypoxie à la naissance	-	-	-	Acceptée	Acceptée
Infection O.R.L.	-	-	-	Acceptée	Acceptée
Fièvre entre 0 et 1 an	-	-	-	Acceptée	Acceptée

**Tableau 57. Dates de la découverte et de la commercialisation des différents facteurs étiologiques des HMI proposés dans la littérature. Compatibilités de ces facteurs en fonction de leurs contemporanéités avec les spécimens archéologiques présentant des HMI ainsi qu’avec la période de maturation des premières molaires permanentes (PMP).**

### 4.3. État sanitaire et conditions de vie des populations du passé

Nous avons précédemment isolé certaines hypothèses étiologiques des HMI chronologiquement compatibles avec l'existence des individus porteurs d'une HMI issus de notre étude. Grâce à notre guide, nous avons diagnostiqué 8 cas de cette anomalie (SeG\_228, SeG\_971, SeG\_191, SeG\_526, SeG\_385, SeG\_407, SeG\_1261 et SeG\_323) dans notre série archéologique de Sains-en-Gohelle (7<sup>ème</sup>-17<sup>ème</sup> siècles, France). Nous avons donc voulu connaître l'état sanitaire et les conditions de vie de ces individus. Le profil de mortalité de la population humaine se caractérise par un rapide déclin durant les premières années de la vie. Ensuite, une relative stabilité des décès est maintenue jusqu'au début de la vie adulte, puis une augmentation progressive des décès reprend, s'accroissant à des âges plus avancés (Wood *et al.* 2002). Le taux élevé de mortalité infantile résulte de leur appartenance aux membres les plus vulnérables d'une population (Krenz-Niedbała 2017). L'état de santé des populations dans les études bioarchéologiques est habituellement évalué par la prévalence des indicateurs squelettiques de stress physiologique (hypoplasie de l'émail, *cribra orbitalia*, hyperostose parotique, lignes de Harris), les infections non spécifiques (périostite, lésions endocrâniennes, sinusite maxillaire et otite moyenne) et les maladies dépendant du régime alimentaire (scorbut et rachitisme) (Ortner 2003, Figus *et al.* 2017). L'analyse des pathologies est un élément fondamental pour apporter des informations sur les conditions de vie de la population inhumée et pour discuter de l'existence éventuelle de groupes sociaux ou familiaux distincts (Marklein *et al.* 2016, Marklein et Crews 2017).

#### 4.3.1. États sanitaires à travers les âges

Roberts (2016) identifie 3 transitions épidémiologiques auxquelles la population humaine a fait face au cours des 10000 dernières années. La première transition se serait produite il y a environ 10000 ans lorsque les individus ont commencé à élever des animaux et à cultiver des plantes en tant que chasseurs-cueilleurs. L'alimentation était devenue moins variée, entraînant alors des maladies déficitaires. Les récoltes pouvaient échouer entraînant une famine inévitable et une malnutrition. La création de villages a occasionné la potentielle contamination des aliments et de l'eau, la densité de la population augmentant avec les infections (Figus *et al.* 2017). La deuxième transition aurait eu lieu avec le début de la révolution industrielle aux 18<sup>ème</sup> et 19<sup>ème</sup> siècles (Roberts 2016). Il y a eu une forte croissance de la population, de nombreuses migrations, une urbanisation et une industrie accrues, ainsi qu'une commercialisation de l'agriculture introduisant de nouveaux agents pathogènes. Bien

qu'il y ait eu une croissance économique pendant cette période, les disparités dans les richesses ont augmenté. Il y a eu beaucoup de pauvreté et les conditions de vie étaient souvent médiocres. Les occupations militaires, le climat, les logements de mauvaise qualité, les faibles niveaux d'hygiène, l'exposition aux pollutions de l'air et de l'eau ainsi que la malnutrition ont considérablement dégradé l'état sanitaire de la population. La troisième transition est contemporaine à notre époque (Roberts 2016). Elle se caractérise par une augmentation des maladies dégénératives telles que le cancer et les pathologies cardiaques, ainsi que la réémergence de maladies infectieuses « anciennes » et l'émergence de nouvelles maladies. L'augmentation des infections, parfois résistantes aux antibiotiques, est accélérée par des voyages plus fréquents et rapides à travers le monde d'un plus grand nombre de personnes.

### **4.3.2. Accouchement et naissance**

Parmi les hypothèses compatibles avec la survenue des HMI, nous avons précédemment cité les problèmes *per-partum* qui regroupent plusieurs facteurs : une hypoxie durant l'accouchement, un accouchement par césarienne, une prématurité, et une grossesse multiple (Lygidakis *et al.* 2008b, Garot *et al.* 2016a). Les conditions sociales défavorables sont associées à un faible poids à la naissance, à des taux plus élevés de mortalité infantile, à une taille plus petite, à un mauvais état de santé et à une baisse de l'espérance de vie (Marmot et Wilkinson 2005, Walsh 2008, Elgar *et al.* 2015, Newman et Gowland 2017).

Les efforts mondiaux visant à améliorer la santé maternelle sont un des objectifs prioritaires du millénaire pour la communauté scientifique internationale (Stone 2016). Certaines hypothèses qui encadrent le risque de décès pour les femmes en âge de procréer continuent de s'articuler sur la théorie anthropologique du « dilemme obstétrique » (Stone 2016). Une grande partie de la communauté scientifique considère que la station debout et la bipédie ont modifié la conformation, la direction et le jeu des pressions sur le bassin, le fermant davantage et le modifiant en segment de tore (Charlier *et al.* 2017). L'accouchement serait alors plus compliqué, d'autant plus que le volume cérébral augmente également pour le fœtus à terme. Cette hypothèse soutenue par des discours médicaux a été citée comme la raison expliquant les difficultés de la naissance humaine. Stone (2016) affirme que renforcer le dilemme obstétrique en encadrant les complications de la reproduction en tant que résultat direct des forces évolutives dissimule les disparités de santé et les risques auxquels les femmes sont confrontées à l'échelle mondiale. La théorie obstétricale met l'accent sur d'autres composantes physiologiques et culturelles qui ont évolué de concert avec la bipédie. Au-delà

de la reproduction, les causes profondes des inégalités en matière de santé révèlent une discrimination fondée sur le genre et une inégalité dans les systèmes de santé. Dans ce nouveau modèle, la mortalité maternelle peut être considérée comme un indicateur sensible de l'inégalité et du développement social et peut être explorée pour ce qu'elle nous dit sur la santé des femmes (Stone 2016). Sur la base de ce modèle, des auteurs ont évalué que le recours fréquent aux césariennes au cours des dernières décennies a entraîné une augmentation évolutive des taux de disproportion fœto-pelvienne de 10 à 20% (Mitteroecker *et al.* 2016). Cette sélection agit sur le diamètre pelvien maternel, sur le mécanisme de naissance et sur la taille du fœtus (Rosenberg 1992). Nous avons évoqué dans une précédente étude que le taux le plus élevé de naissances par césarienne était précisément dans le pays où la prévalence de l'HMI atteignait le score le plus élevé (Garot *et al.* 2016a). Il s'agit du Brésil qui présente les taux les plus élevés de césariennes au monde (45,9% des accouchements) mais également la prévalence la plus élevée de HMI (40,2%) (Soviero *et al.* 2009, Gibbons *et al.* 2010). Notre précédente étude était consacrée au recensement des différents facteurs étiologiques survenant entre la naissance et les 3 premières années de vie dans un groupe d'enfants affectés par une HMI en s'appuyant sur leurs carnets de santé (Garot 2012). Les problèmes *per-partum* tels que l'hypoxie à la naissance et la césarienne étaient significativement associés à l'apparition de HMI dans notre étude (Garot *et al.* 2016a). La possibilité d'une association entre la naissance par césarienne et l'hypoxie à la naissance doit être envisagée. L'hypotension maternelle est la complication la plus fréquente de l'anesthésie rachidienne pour l'accouchement par césarienne. Elle peut être accompagnée de nausées ou de vomissements sévères qui peuvent avoir de graves conséquences pour la mère (inconscience, problèmes pulmonaires) et aussi pour l'enfant à naître (hypoxie, acidose et problèmes névralgiques) (Cyna *et al.* 2006). Selon Hansen *et al.*, les enfants nés par césarienne programmée (avant travail ou rupture des membranes) ont un risque accru de morbidité respiratoire (OR=1,9 [1,2 à 3]) par rapport aux enfants nés par voie basse ou par une césarienne d'urgence (Hansen *et al.* 2008). En 2009, Guergolette *et al.* ont rapporté que le travail serait associé à une augmentation du stress oxydatif placentaire et aurait une influence sur le stress oxydatif maternel (Guergolette *et al.* 2009). *A contrario*, d'autres auteurs ont conclu que le stress oxydatif dans la circulation fœtale ne dépend pas du type d'accouchement (Fogel *et al.* 2005). Une autre étude a montré que les nouveau-nés seraient exposés à un stress oxydatif plus élevé lorsqu'ils naissent par voie basse (Inanc *et al.* 2005). Nous retiendrons cependant qu'il existe un consensus scientifique concernant le lien entre l'hypoxie et la césarienne (Inanc *et al.* 2005, Cyna *et al.* 2006, Hansen *et al.* 2008, Guergolette *et al.* 2009). Dans la majorité des cas de césariennes, à l'exception des césariennes d'urgence réalisées pendant le travail, l'anesthésie

rachidienne est utilisée. La pratique d'une césarienne peut faire suite à une détresse du fœtus (prolapsus du cordon, hématome rétro-placentaire, éclampsie, etc.) ou à un problème maternel (bassin étroit, troubles maternels graves lors d'un accouchement antérieur par voie basse, malformations, tumeurs, utérus anormal ou cicatrisé, etc.). L'hypoxie fœtale peut être un facteur décisionnel dans le choix du type d'accouchement mais peut également être causée par une césarienne. L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a mis en évidence le nombre toujours croissant de naissances par césariennes au cours des 30 dernières années et en particulier le problème de la surmédicalisation de l'accouchement par cette technique dans les pays riches (Gibbons *et al.* 2010).

Un autre facteur pouvant survenir à la naissance est la prématurité d'un accouchement. Quelques études ont mis en évidence un lien entre la prématurité et les HMI dans les populations du vivant (Seow 1996, Aine *et al.* 2000, Beentjes *et al.* 2002, Lygidakis *et al.* 2008b). Les progrès dans le domaine médical permettent à l'heure actuelle d'augmenter les chances de survie d'un enfant né prématurément. Si un lien existe entre les HMI et la prématurité, nous pourrions supposer que la prévalence des HMI dans les populations médiévales serait alors moindre par rapport aux populations actuelles du fait de la moindre survie des enfants prématurés.

### **4.3.3. Les infections et maladies de la petite enfance à travers les âges**

Nous avons évoqué le fait que les infections O.R.L. constituaient un facteur chronologiquement compatible avec les HMI dans la série de Sains-en-Gohelle. Parmi celles-ci, la sinusite maxillaire chronique se manifeste par des lésions de résorption et une néoformation osseuse au niveau du plancher et des parois des sinus maxillaires (Boocock *et al.* 1995). La sinusite est une inflammation de la muqueuse des sinus paranasaux, impliquant à la fois des mécanismes infectieux et non infectieux (Teul *et al.* 2013). Des auteurs ont étudié la prévalence de ces lésions dans des populations médiévales et ont mis en évidence le fait que les individus vivants en zone urbaine présentaient un taux significativement plus élevé de sinusites que ceux vivants en zone rurale (Lewis *et al.* 1995, Roberts 2007, Krenz-Niedbała 2017). Ces auteurs l'expliquaient en partie par la pollution importante de l'air dans les zones urbaines.

Les manifestations squelettiques de l'otite moyenne chronique comprennent des lésions érosives et une néoformation osseuse au niveau des osselets (Qvist et Grontved 2000). L'otite moyenne résulte de conditions infectieuses et inflammatoires complexes, avec une variété de

sous-types différents dans les signes et symptômes, les complications et le traitement (Qureishi *et al.* 2014). Pour la majorité des enfants, l'infection virale des voies respiratoires supérieures déclenche la cascade d'événements qui mène finalement au développement de l'otite. L'otite moyenne peut être compliquée par des affections infectieuses intra-temporales potentiellement mortelles (comme la mastoïdite) ou intra-crânienne (comme la méningite) (Chole et Sudhoff 2010). Qvist et Grontved (2001) ont décrit un lien entre une incidence croissante de l'otite moyenne dans une population médiévale danoise et une détérioration des conditions de vie du 11<sup>ème</sup> au 14<sup>ème</sup> siècles. Krenz-Niedbała (2017) a étudié la présence de signes osseux de l'otite moyenne chronique dans différentes séries archéologiques médiévales de Pologne et a mis en évidence une fréquence d'otites nettement plus élevée dans la classe d'âge [0-3 ans] que dans la classe d'âge [4-11 ans]. Cette période allant de la naissance à l'âge de 3 ans correspond à la période de minéralisation des PMP (Moorrees *et al.* 1963a) et donc à l'intervalle dans lequel intervient les potentiels facteurs étiologiques des HMI.

Aucune étude à ce jour n'a comparé les signes ostéologiques d'infections O.R.L. avec la présence de défauts de l'émail tels que des hypominéralisations.

#### **4.4.4. Carences alimentaires au cours du temps**

Les pathologies les plus fréquemment citées dans la littérature en lien avec une carence alimentaire sont le rachitisme (déficit en vitamine D) et le scorbut (déficit en vitamine C).

La synthèse de la vitamine D nécessite l'exposition de la peau aux rayons ultra-violet de la lumière du soleil et à la prise alimentaire de cette vitamine à travers l'ingestion de graisses animales, en particulier les jaunes d'œufs, les poissons gras et le foie (Pettifor 2004, Brickley *et al.* 2005, 2010). Une carence sévère en vitamine D entraîne des déformations squelettiques. Les anomalies survenant lors de la croissance des os sont appelés *rachitismes* (Brickley *et al.* 2014). Le terme *ostéomalacie* est réservé aux défauts de l'os remodelé et se retrouve donc chez l'adulte (Brickley *et al.* 2014). Néanmoins, même en l'absence de carence en vitamine D, une déficience en calcium et/ou phosphore devrait également être considérée comme une cause possible de l'altération du modelage et du remodelage osseux car ces deux éléments sont nécessaires pour une formation saine des ostéoïdes (Meyer 2016). D'Ortenzio *et al.* (2016) ont démontré que des défauts de minéralisation de la dentine retrouvés dans des dents modernes et archéologiques, étaient associés à une perturbation de la voie ou de l'homéostasie de la vitamine D, du phosphate ou du calcium. Des hypoplasies dentaires font également parties du tableau clinique des déficits

en vitamine D (Brickley *et al.* 2014). Le terme *rachitisme* est apparu pour la première fois en 1634 en figurant dans le bilan annuel de mortalité de la ville de Londres (O'Riordan et Bijvoet 2014). Les premières descriptions de cas de rachitisme ont été publiées entre 1645 et 1668, successivement par Whistler, Boot, Glisson et Mayow (O'Riordan et Bijvoet 2014). Il est raisonnable de penser que la carence en vitamine D était une cause majeure des cas de rachitisme décrits au milieu du 17<sup>ème</sup> siècle. L'Angleterre, à cette époque, était le lieu de grandes inégalités : une grande richesse côtoyait une grande pauvreté. La ville fortifiée de Londres était très fréquentée et les nombreuses rues très étroites limitaient l'accès à la lumière du soleil. Avec les guerres civiles, il y eut de graves pénuries alimentaires et les cas de rachitisme semblaient affecter autant les pauvres que les classes supérieures. Peu de progrès ont été réalisés au cours des deux siècles suivants, bien qu'en 1728, Moore cité par O'Riordan et Bijvoet (2014) rapportait l'efficacité de l'huile de foie de requin dans le traitement du rachitisme. Au 20<sup>ème</sup> siècle, Hess et Unger (1917) ont montré que l'huile de foie de morue pouvait prévenir et guérir le rachitisme à travers une étude réalisée auprès d'un groupe d'enfants new yorkais. En 1927, la commercialisation de la vitamine D3 (sous le nom commercial de *Vigantol<sup>MD</sup>*) est réalisée par le laboratoire Merck et Bayer. Le chimiste à l'origine de la première synthèse de vitamine D3 est Adolf Windaus qui reçut le prix Nobel de chimie en 1928 (Wolf 2004). Le rachitisme a quasiment disparu dans les pays industrialisés suite à la supplémentation systématique en vitamine D chez l'enfant, mais des études récentes ont évoqué une augmentation de son incidence, notamment chez le nourrisson (Estrade *et al.* 2017).

Le scorbut résulte d'une carence en vitamine C. Son diagnostic dans les séries archéologiques n'est pas évident car il se manifeste par des lésions des tissus mous (parodontites, hémorragies infra-cutanées et périfolliculaires multiples, zones purpuriques et ecchymotiques, anémies et pertes de tonus musculaire) (Armelagos *et al.* 2014). Le diagnostic peut être évoqué dans des contextes particuliers : malnutrition générale, autres déficiences en micro-nutriments (en particulier les anémies), grande pauvreté, marginalisation et violence (Armelagos *et al.* 2014). Les lésions indicatives du scorbut dans les études de populations de l'Europe médiévale et post-médiévale ont des prévalences allant de 0 à environ 7% (Brickley et Ives 2010). Aujourd'hui, le scorbut est le plus souvent observé dans des groupes défavorisés fréquentant les dispensaires comme les personnes alcoolodépendantes, les personnes âgées isolées et les personnes institutionnalisées (Pimentel 2003).

#### 4.4.5. *État sanitaire de la population de Sains-en-Gohelle*

L'étude anthropologique de la série de Sains-en-Gohelle a été réalisée par deux anthropologues : N. Crépeau et F. Chenal. Les tables-types de mortalité de Ledermann (1969) pour les populations pré-jennériennes ont été utilisées pour étudier cette population archéologique (Crépeau et Chenal 2012a). Une sous-représentation des individus immatures par rapport aux adultes a été mise en évidence par N. Crépeau et F. Chenal. L'analyse de la structure par âge de la population a permis de préciser que le sous-effectif d'individus immatures concernait exclusivement les individus de moins d'un an (Crépeau et Chenal 2012a). Plusieurs explications peuvent permettre d'expliquer cela : physiologique (avec une moins bonne résistance des os des individus immatures à la dégradation biochimique dans le sol) (Guy *et al.* 1997), taphonomique ou culturelle (avec une pratique funéraire discriminatoire selon l'âge de l'enfant) (Blaizot *et al.* 2003). Il est également envisageable que ces individus aient subi une érosion importante ou une destruction préférentielle de leur tombe liée à leur faible profondeur d'enfouissement (Crépeau et Chenal 2012a). Sur le site de Sains-en-Gohelle, de nombreux immatures se trouvaient dans les niveaux supérieurs de la stratigraphie. Une grande partie d'entre eux a donc pu être détruite par l'érosion ou par le décapage mécanique de la surface de fouille. Une dernière hypothèse reste à évoquer : les très jeunes enfants ont pu être enterrés ailleurs, au sein d'un secteur se trouvant en dehors de l'emprise de fouille. Cette interprétation pourrait également expliquer le déficit observé, mais elle est moins probante dans le cadre des phases d'inhumation contemporaines de l'église car les immatures se situent généralement à proximité de ces dernières (Castex *et al.* 1996, Crépeau et Chenal 2012a).

L'étude des lésions carieuses et du tartre de la population de Sains-en-Gohelle a mis en évidence un état bucco-dentaire relativement mauvais. La présence d'abcès chez un quart de la population, ainsi que les nombreuses pertes *ante-mortem* renforcent encore l'hypothèse d'une mauvaise hygiène bucco-dentaire à Sains-en-Gohelle (Crépeau et Chenal 2012a). Les hypoplasies linéaires permettent de proposer des hypothèses sur les conditions environnementales de la population. Près de 27 % des individus immatures présentaient une ou plusieurs hypoplasies (Crépeau et Chenal 2012a). Cette fréquence s'approche des taux d'hypoplasies calculés dans les populations médiévales (Ribot et Roberts 1996, Bennike *et al.* 2005, Novak *et al.* 2012). Concernant les dents permanentes des immatures, les hypoplasies se répartissaient sur les différents types de dents de la même manière que chez les adultes : les canines mandibulaires et les incisives centrales maxillaires étaient les dents les plus touchées (Crépeau et Chenal 2012a). D'après l'étude de la distribution des hypoplasies sur les surfaces

dentaires et selon la méthode de Reid et Dean (2000), il semble que les périodes de stress interviennent en grande majorité entre 2 ans et demi et 7 ans, avec une fréquence plus importante entre 2 ans et demi et 5 ans (Crépeau et Chenal 2012a). Ces atteintes indiquent que des stress biologiques sévères ont marqué une grande partie de la population pendant l'enfance. Certains ont pu être liés à la période du sevrage, mais d'autres sont intervenus tout au long de la croissance (notamment entre 1 et 7 ans), probablement liés à la malnutrition ou à des maladies infectieuses (Crépeau et Chenal 2012a). La population de Sains-en-Gohelle vivait avant la découverte du vaccin contre la variole en 1796 et avant la considérable amélioration des techniques obstétricales (Crépeau et Chenal 2012a).

## 5. Colorations taphonomiques : Quelles implications ?

---

Selon Nielsen-Marsh et Hedges (2000) il existe trois modifications importantes de l'apatite osseuse qui peuvent être utilisées comme indicateurs de changement diagénétique : l'augmentation de la porosité, l'augmentation de la cristallinité et l'inclusion d'ions exogènes (Nielsen-Marsh et Hedges 2000). Ces processus peuvent affecter de manière significative les os archéologiques mais peuvent également être porteurs d'informations sur le milieu de conservation de ces derniers. Notre échantillon de dents colorées par taphonomie comprenait principalement des dents issues de la série archéologique de Jau-Dignac-et-Loirac. Les analyses en XRF ont montré une augmentation en Mn, Fe, Cu, Sr et Pb dans les zones colorées. Mansilla *et al.* (2003) ont mis en évidence que les colorations des dents archéologiques de leur étude présentaient des taux de Fe, de Mn et de matières organiques supérieurs à la normale qui seraient induits par le lessivage du sol (transport d'éléments par l'eau de pluie en direction de la nappe phréatique). Concernant les sites de Jau-Dignac-et-Loirac, ils occupent une position topographique particulière à proximité des berges de la Gironde, sur le rivage gauche de l'estuaire du fleuve, lequel est constitué d'îlots argilo-graveleux et de zones marécageuses (Cartron et Castex 2006, Laforest *et al.* 2012). Avant l'assèchement des marais en 1630, le site devait se trouver à proximité immédiate de l'estuaire et a très certainement été inondé lors de certaines périodes comme en témoignent les objets retrouvés, tous fortement érodés (Laforest *et al.* 2012). Carvalho *et al.* (2007) ont montré que la teneur en Mn et en Fe était bien supérieure dans la couche externe de l'émail en contact avec les sédiments, affichant donc une forte contamination par le sol. Les os qui n'étaient pas bien conservés avaient une concentration très élevée en Fe et Mn (Stipisic *et al.* 2014). Les concentrations en Fe et de Mn seraient donc des indicateurs importants de la préservation des os archéologiques, notamment dans le cadre d'analyses isotopiques. Bien qu'il y ait eu peu de recherches sur les effets de l'inhumation et de l'échange possible d'ions sur la densité minérale de l'émail, McKay *et al.* pensaient que l'échange d'ions pourrait être à l'origine d'une diminution de la densité minérale en surface de l'émail (McKay *et al.* 2013). Nous avons également constaté ce phénomène dans notre étude. Nielsen-Marsh et Hedges (2000) concluaient que l'hydrologie d'un site individuel semblait avoir une forte influence sur le résultat de la conservation osseuse et que la porosité serait le paramètre diagénétique le plus efficace dans la détermination de la préservation de l'os dans son environnement funéraire (Nielsen-Marsh et Hedges 2000).

Des auteurs ont noté que les différents types d'oxydes de Mn étaient à l'origine de différentes colorations, à savoir noires ou grises, de leurs échantillons osseux (Reiche et Chalmin 2008). Ces différents types d'oxydes ( $Mn^{2+}$ ,  $Mn^{3+}$ , ...) varieraient en fonction de leur provenance. Par exemple, le  $Mn^{2+}$  est issu des infiltrations d'eau à travers le sol et se substitue au  $Ca^{2+}$  du tissu osseux (Reiche *et al.* 2002). Par conséquent, l'étude des oxydes de Mn spécifiques pourrait conduire à des conclusions sur le contexte funéraire des spécimens, lors d'une étude plus systématique. Les auteurs précisait que la spectroscopie d'absorption X (XANES) est l'une des méthodes de choix pour déterminer la structure électronique des métaux de transition qui permettraient de trouver l'origine de la couleur. Cette méthode utilise le rayonnement synchrotron. À l'heure actuelle, l'accès aux synchrotrons français (SOLEIL, Saint-Aubin) et européen (ESRF, Grenoble) est très restreint. Les auteurs ont également fait remarquer que les inclusions rouge et brunâtre contenaient probablement des oxydes de fer (Reiche et Chalmin 2008). Il est également envisageable que la présence de fer provienne de la corrosion d'éléments métalliques tels qu'un cercueil métallique ou d'objets disposés dans la sépulture (Dudgeon *et al.*).

Des auteurs ont également démontré que la XRF permettait de déterminer l'origine de diverses altérations taphonomiques, à savoir la chaleur ou la contamination par des éléments chimiques (Christensen *et al.* 2012). L'analyse par XRF a également été utilisée afin d'analyser la concentration en plomb de l'émail afin d'évaluer de potentielles contaminations *ante-mortem* (professionnelle) ou *post-mortem* (accidentelle) (Bloch et Shapiro 1986, de Souza Guerra *et al.* 2010). La technique par XRF a également été employée pour distinguer avec un haut degré de précision (94%) un tissu osseux d'un tissu d'origine non osseuse mais ayant une composition chimique similaire (Zimmerman *et al.* 2015, Nganvongpanit *et al.* 2017).

# Conclusion et perspectives



# 1. Conclusion

---

À ce jour, plus d'une trentaine d'hypothèses étiologiques des HMI ont été recensées dans la littérature sans qu'aucune ne puisse être clairement détachée. Certaines hypothèses concernent des facteurs contemporains aux 20<sup>ème</sup> et 21<sup>ème</sup> siècles tels que l'ingestion de polluants environnementaux (bisphénols et dioxines) ou de médicaments (antibiotiques et glucocorticoïdes). Nous nous sommes donc interrogés sur l'implication de l'éventuelle découverte de HMI dans des séries archéologiques dont la datation est antérieure à ces facteurs d'actualité.

Pour mener à bien ce projet, nous avons examiné 21 séries archéologiques. Les 4 séries françaises comprennent Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais), Cognac-Saint-Martin (Charente), Beauvais (Oise) et Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde) et proviennent de cimetières médiévaux et post-médiévaux. Les 17 séries anglaises (Londres) sont issues de cimetières romains, médiévaux et post-médiévaux. Nous avons dénombré 555 individus dont l'âge au décès est compris entre 5 et 19 ans et dont la datation chronologique s'étale sur une période allant du 1<sup>er</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle. Deux adultes présentant des colorations taphonomiques dentaires ont été ajoutés. Parmi les 917 PMP observées, 16,5% présentaient des colorations, 9,1% étaient atteintes d'hypoplasies, 9,1% avaient des lésions carieuses de score ICDAS 2 ou supérieurs. Les pertes *ante-mortem* de PMP représentaient 2% des anomalies enregistrées. Parmi les 151 PMP colorées, 166 opacités ont été notées dont 53% sont diffuses et 47% délimitées. Si nous nous basons uniquement sur les critères de diagnostic de l'HMI de l'EAPD, nous pourrions conclure que, dans l'ensemble de nos séries archéologiques, 14,5% des individus seraient affectés par l'HMI. La difficulté et la particularité du diagnostic de cette anomalie dans des séries archéologiques reposent sur le fait que des colorations *post-mortem* ont pu engendrer des colorations d'apparence similaire à des HMI. Nous avons donc mis au point un guide de diagnostic à l'aide de méthodes non-destructives afin d'optimiser la fiabilité de ces diagnostics dans les populations archéologiques.

Afin de comprendre les caractéristiques de l'émail hypominéralisé, nous avons récolté 46 premières molaires permanentes provenant de 26 individus porteurs d'une HMI et issus du vivant. La microtomographie a permis de montrer qu'il existait des différences significatives de densité minérale entre une zone hypominéralisée et une zone saine sur une même dent. Dans

l'émail sain, la densité minérale augmentait de la JED jusqu'à la surface alors que dans l'émail hypominéralisé, la densité minérale diminuait de la JED jusqu'au quart externe puis augmentait jusqu'à la surface de l'émail. La spectroscopie Raman a permis de mettre en évidence que le ratio phosphate/ $\beta$ -carbonate était augmenté au sein de l'émail hypominéralisé.

Un effectif de 9 dents archéologiques colorées par taphonomie a été sélectionné et analysé en fluorescence X. Une augmentation significative des concentrations relatives en Fe, Mn, Cu et Pb a été mise en évidence dans les zones colorées par rapport à celles qui n'étaient pas colorées. En croisant ces données, la distinction entre une hypominéralisation et une coloration taphonomique est ainsi possible.

Au terme de notre travail, nous avons publié la découverte des plus anciens cas archéologiques de HMI et de HSPM provenant de séries archéologiques datées du 7<sup>ème</sup> au 18<sup>ème</sup> siècles. Ainsi, nous montrons que le rôle des facteurs contemporains à notre époque (à savoir entre autres les dérivés de la dioxine, les bisphénols, les antibiotiques et les corticoïdes) serait moindre que ce que les publications actuelles auraient tendance à considérer. *A contrario*, les facteurs tels que l'hypoxie pouvant survenir lors de l'accouchement, la prématurité ou les maladies infantiles, sans exclure la prédisposition génétique, seraient des hypothèses à ne pas enterrer. Il ne faut pas oublier qu'un consensus scientifique existe sur l'aspect multifactoriel de l'anomalie. Nous avons également constaté que la prévalence estimée de 9,3% de HMI dans nos séries archéologiques avoisine les prévalences connues à l'heure actuelle dans les populations du vivant en Europe. Ce travail montre l'intérêt majeur d'études bioarchéologiques dans le cadre de problématiques de santé publique actuelles.

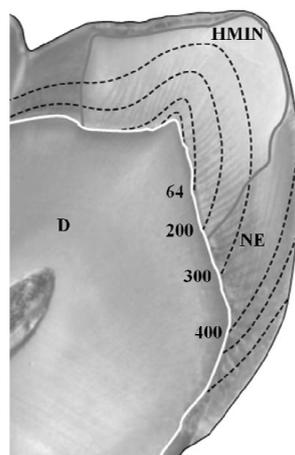
Nous avons également pu mettre en corrélation l'augmentation de Mn et de Fe dans les dents colorées par taphonomie provenant de la série de Jau-Dignac-et-Loirac et le fait que le site ait été une zone inondable à l'époque où les individus ont été inhumés.

## 2. Perspectives

Différents prolongements de ce travail sont envisagés, que ce soit grâce à l'étude d'autres séries archéologiques ou par l'utilisation de nouvelles techniques d'analyse.

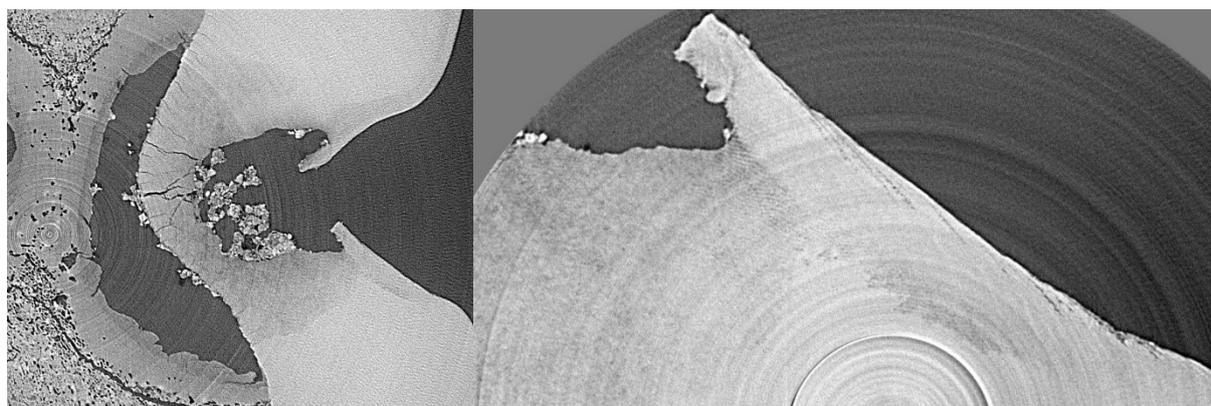
L'étude de la composition élémentaire de dents dont le milieu de conservation serait connu permettrait de mieux appréhender ces phénomènes. Ces événements particuliers pourraient être par exemple : le passage d'un cours d'eau, la présence d'objet métallique (en fer, cuivre ou plomb), le contact avec un type de contenant (par exemple un cercueil en plomb), l'identification d'une contamination bactérienne ou mycobactérienne ou l'identification d'un type de sédiments. L'étude de séries archéologiques plus ou moins anciennes permettrait également de connaître le seuil minimum de temps de contact avec le contaminant pouvant entraîner une coloration.

Dans une étude future, la corrélation entre la présence de HMI et d'autres marqueurs de stress tels que la porosité de la paroi supéro-latérale des cavités orbitaires appelée *cribra orbitalia* ou les hypoplasies de l'émail pourrait être testée. Nous pensons également que l'étude de la position des hypominéralisations sur la surface de l'émail à savoir au niveau du tiers cervical, du tiers médian et du tiers occlusal pourrait nous permettre de dater le stress. Fagrell (2011) a réalisé ce type d'étude à partir de coupes histologiques de dents actuelles présentant une HMI et d'un modèle d'estimation des jours de croissance en fonction des stries de croissance pour les PMP (Figure 107). Ainsi Fagrell a estimé, à partir de la figure ci-dessous, que le facteur ayant induit l'hypominéralisation a agi dans les 400 premiers jours de l'individu (Fagrell 2011).



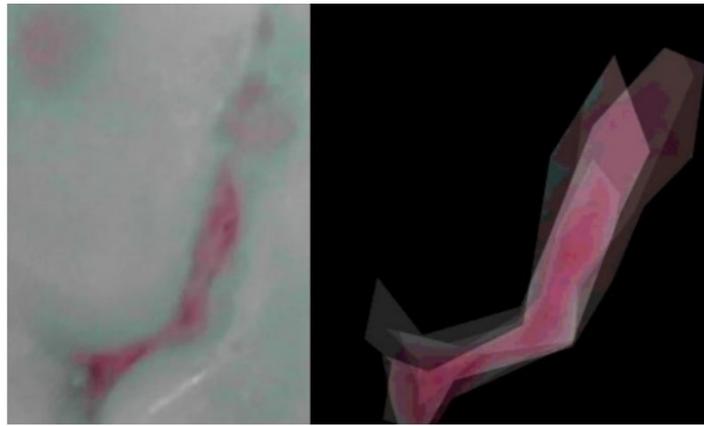
**Figure 107.** Figure extraite de Fagrell (2011). Coupe sagittale d'une dent actuelle présentant une HMI. HMIN : hypominéralisation, NE : émail sain, D : dentine, 64, 200, 300, 400 : estimation des jours de croissance en fonction d'un modèle d'estimation des stries de croissance.

La corrélation entre les stries de croissance et la survenue de l'hypominéralisation permettrait de cibler la période durant laquelle le stress apparaît. Ce type d'étude a déjà été réalisé en datant des hypoplasies de l'émail (Kierdorf *et al.* 2012). La caractérisation des lignes de croissance de l'émail de manière non destructive est uniquement accessible en utilisant le rayonnement synchrotron à contraste de phase. Ces données fourniraient des informations cruciales et nouvelles pour une compréhension complète de l'origine et du développement des HMI. L'étude de la structure de l'émail hypominéralisé en 4D (représentation en mouvement par exemple) est extrêmement importante pour comprendre ses caractéristiques biomécaniques inhérentes. Cette étude permettrait de comprendre l'organisation et la morphologie des prismes d'émail dans l'émail hypominéralisé, ce qui pourrait conduire à des interventions thérapeutiques améliorées. Comprendre l'origine des HMI améliorera les possibilités de prévention. Des auteurs ont précédemment montré que les prismes d'émail étaient modifiés dans la zone hypominéralisée, mais une analyse le long des prismes (de la JED à la surface amélaire) en 4D n'a jamais été menée. Le rayonnement synchrotron de contraste de phase permet de caractériser les striations de l'émail et les prismes continus dans l'épaisseur totale de ce tissu, ainsi que leur organisation sans destruction de l'échantillon (Le Cabec *et al.* 2015). Nous avons répondu à des appels à projet de la ligne ID19 du synchrotron de Grenoble mais nous n'avons obtenu à ce jour que des réponses négatives. Nous avons pu réaliser quelques essais au synchrotron SOLEIL mais les résultats se sont avérés peu concluants car les stries de croissance étaient difficilement appréciables (Figure 108). A ce jour, seule l'équipe conduite par Paul Tafforeau effectuant leurs analyses sur la ligne ID19 (ESRF, synchrotron européen de Grenoble) semble obtenir des résultats satisfaisants (Tafforeau et Smith 2008, Tafforeau *et al.* 2012, Le Cabec *et al.* 2015).



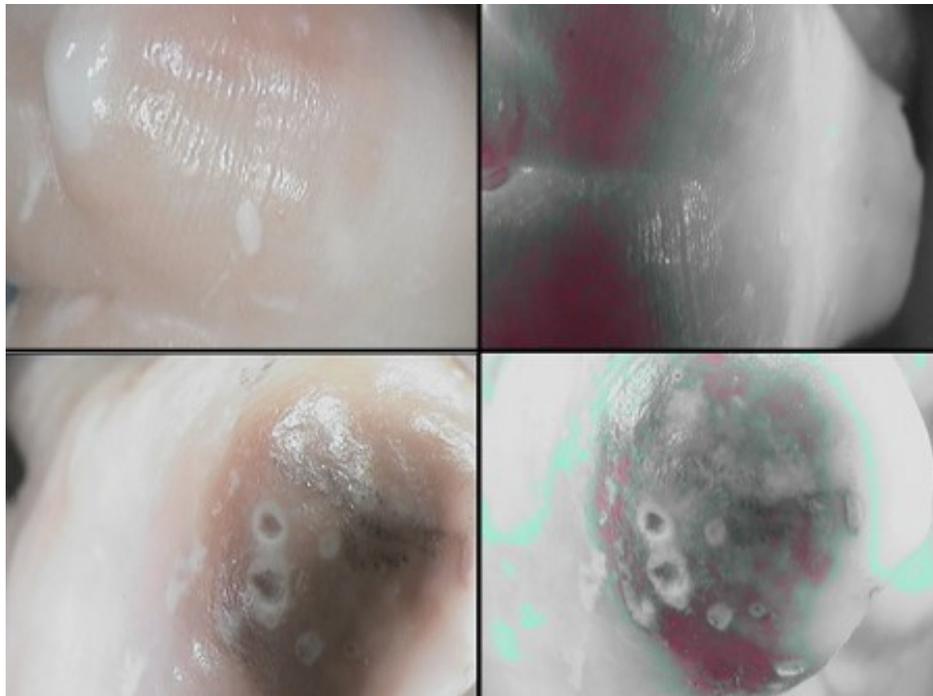
**Figure 108.** Coupes microtomographiques d'une dent archéologique (Sains-en-Gohelle) réalisées au synchrotron SOLEIL (Saint-Aubin, Essonne, France).

Depuis quelques années, les caméras intra-buccales à fluorescence se sont développées cependant un choix restreint de caméras QLF (*Quantitative Light Fluorescence*) demeure encore d'actualité. La teneur organique de l'émail peut être étudiée par plusieurs méthodes, parmi lesquelles la fluorescence laser (LF) (Farah *et al.* 2008). En odontologie, cette dernière fait généralement référence à la mesure de la fluorescence d'une dent causée par ses propres composants fluorescents (connus sous le nom de fluorophores) après irradiation de la dent avec une lumière laser spécifique. Il a été démontré que la fluorescence des tissus dentaires cariés était différente de celle des tissus sains. Il existe peu d'étude ayant utilisé ce type de caméras pour l'analyse d'hypominéralisations amélaire. Les premiers auteurs à avoir testé une caméra (DIAGNOdent<sup>MD</sup>, KaVo, Allemagne) sur des dents hypominéralisées sont Farah *et al.* (2008). Un autre type de caméra a également été utilisé sur des dents présentant une HMI par Durmus *et al.* (2017) : la FluoreCam<sup>MD</sup> (Therametric Technologies, USA). Très récemment, le QLF-D Biluminator<sup>MD</sup> (Inspektor Research Systems, Allemagne) a été utilisé comme moyen d'étude *in vitro* par Gambetta-Tessini *et al.* (2017) pour détecter les lésions hypominéralisées de différentes couleurs et sévérités (Gambetta-Tessini *et al.* 2017). Ces différents auteurs montrent que les lésions d'hypominéralisation semblaient être détectées par la caméra et le logiciel mais de plus amples investigations restent à mener (Farah *et al.* 2008, Durmus *et al.* 2017, Gambetta-Tessini *et al.* 2017). Ce type de caméra a également été utilisé dans une série archéologique afin de diagnostiquer des lésions carieuses débutantes qui ne seraient pas visibles à l'œil nu (Tomczyk *et al.* 2014). Nous pensons que ces résultats pourraient être améliorés en réhydratant les dents archéologiques. Peu d'études ont été réalisées sur l'efficacité de ces caméras à détecter les lésions carieuses débutantes (Domejean *et al.* 2016). Une étude a récemment montré que la Soprolife<sup>MD</sup> apportait des résultats plus performants que le Diagnodent<sup>MD</sup>. Une étude que nous encadrons comprenant un effectif de dents archéologiques (Sains-en-Gohelle, Pas-de-Calais, France) affectées par des lésions carieuses débutantes est actuellement en cours dans le cadre d'un stage de master 1 parcours recherche au sein du laboratoire PACEA (Université de Bordeaux, UMR5199). Baptiste Berges qui réalise cette étude a établi un protocole d'étude pour l'utilisation de deux caméras à fluorescence (Soprolife<sup>MD</sup> et Soprocare<sup>MD</sup>, Actéon). Ce protocole consiste à capturer la surface amélaire atteinte par les lésions carieuses débutantes (Figure 109a) à l'aide de ces deux caméras à différents temps de réhydratation. La réhydratation est réalisée avec de l'eau stérile. Un logiciel d'infographie (Photoshop<sup>MD</sup> version 12.0, Adobe) compare et superpose l'étendue des lésions (Figure 109b) en fonction des temps de réhydratation. Une isohélie de 15 a été réalisée afin d'améliorer l'analyse de ses images superposées en diminuant le nombre de nuances de couleurs.



**Figure 109.** Image issues de la Soprocure<sup>MD</sup> (Acteon) en mode cariologie à gauche et superposition des images réalisées à différents temps de réhydratation à partir du logiciel Photoshop<sup>MD</sup> (Adobe). Courtoisie Baptiste Berges.

Nous avons réalisé des premiers essais sur des dents colorées par taphonomie et des dents atteintes par une HMI sans réhydratation préalable des dents (Figure 110). Les résultats de l'étude de Baptiste Berges étant en cours, nous attendons ses conclusions pour poursuivre notre étude afin de savoir s'il est possible à l'aide de ces caméras de distinguer les colorations taphonomiques de colorations de type HMI ou de lésions carieuses (Projet HEAT, CNRS-Université de Melbourne).



**Figure 110.** Images issues de la Soprocure<sup>MD</sup> (Acteon) en mode lumière du jour à gauche et en mode cariologie à droite réalisées à partir d'une dent archéologique colorée par taphonomie (en haut) et de la PMP gauche maxillaire archéologique du spécimen SeG\_407 dont le diagnostic de HMI a été préalablement mis en évidence (en bas). Courtoisie Dr Patrick Rouas (Projet HEAT).

# Bibliographie

---

- ABDULLAH, M. M., A. R. LY, W. A. GOLDBERG, K. A. CLARKE-STEWART, J. V. DUDGEON, C. G. MULL, T. J. CHAN, E. E. KENT, A. Z. MASON ET J. E. ERICSON. 2012. Heavy metal in children's tooth enamel: related to autism and disruptive behaviors? *Journal of Autism and Developmental Disorders* 42 (6):929-36.
- ADDY, M. ET J. MORAN. 1995. Mechanisms of stain formation on teeth, in particular associated with metal ions and antiseptics. *Advances in Dental Research* 9 (4):450-456.
- AHMADI, R., N. RAMAZANI ET R. NOURINASAB. 2012. Molar incisor hypomineralization: a study of prevalence and etiology in a group of Iranian children. *Iranian Journal of Pediatrics* 22 (2):245-51.
- AINE, L., M. C. BACKSTROM, R. MAKI, A. L. KUUSELA, A. M. KOIVISTO, R. S. IKONEN ET M. MAKI. 2000. Enamel defects in primary and permanent teeth of children born prematurely. *Journal of Oral Pathology and Medicine* 29 (8):403-9.
- AKKUS, A., O. AKKUS, R. ROPERTO ET L. LANG. 2016. Investigation of intra- and inter-individual variations of mineralisation in healthy permanent human enamel by Raman spectroscopy. *Oral Health and Preventive Dentistry* 14 (4):321-7.
- ALALUUSUA, S. 2010. Aetiology of Molar-Incisor Hypomineralisation: A systematic review. *European Archives of Paediatric Dentistry* 11 (2):53-8.
- ALALUUSUA, S., P. CALDERARA, P. M. GERTHOUS, P. L. LUKINMAA, O. KOVERO, L. NEEDHAM, D. G. PATTERSON, JR., J. TUOMISTO ET P. MOCARELLI. 2004. Developmental dental aberrations after the dioxin accident in Seveso. *Environmental Health Perspectives* 112 (13):1313-8.
- ALALUUSUA, S. ET P. L. LUKINMAA. 2006. Developmental dental toxicity of dioxin and related compounds-a review. *International Dental Journal* 56 (6):323-31.
- ALALUUSUA, S., P. L. LUKINMAA, M. KOSKIMIES, S. PIRINEN, P. HOLTTA, M. KALLIO, T. HOLTINEN ET L. SALMENPERA. 1996a. Developmental dental defects associated with long breast feeding. *European Journal of Oral Sciences* 104 (5-6):493-7.
- ALALUUSUA, S., P. L. LUKINMAA, T. VARTIAINEN, M. PARTANEN, J. TORPPA ET J. TUOMISTO. 1996b. Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans via mother's milk may cause developmental defects in the child's teeth. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 1 (3):193-7.
- ALLAZZAM, S. M., S. M. ALAKI ET O. A. EL MELIGY. 2014. Molar incisor hypomineralization, prevalence, and etiology. *International Journal of Dentistry* 2014:234508.
- ALLIOT-LICHT, BRIGITTE. 2012. "Cours d'odontogénèse. Chap 3 - Amélogénèse.". <http://spiralconnect.univ-lyon1.fr/spiral-files/download?mode=inline&data=2733816>.
- AMERICANO, G. C., P. E. JACOBSEN, V. M. SOVIERO ET D. HAUBEK. 2017. A systematic review on the association between molar incisor hypomineralization and dental caries. *International Journal of Paediatric Dentistry* 27 (1):11-21.
- AMINOV, R. I. 2010. A brief history of the antibiotic era: lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology* 1:134.
- ANDRADE, N. S., A. S. PONTES, H. E. DE SOUSA PAZ, M. S. DE MOURA, L. F. MOURA ET M. D. LIMA. 2017. Molar incisor hypomineralization in HIV-infected children and adolescents. *Special Care in Dentistry* 37 (1):28-37.
- ARMELAGOS, GEORGE J., KENDRA SIRAK, TAYLOR WERKEMA ET BETHANY L. TURNER. 2014. Analysis of nutritional disease in prehistory: The search for scurvy in antiquity and today. *International Journal of Paleopathology* 5:9-17.

- ARROW, P.** 2009. Risk factors in the occurrence of enamel defects of the first permanent molars among schoolchildren in Western Australia. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 37 (5):405-15.
- AYDIN, B., T. PAMIR, A. BALTACI, M. N. ORMAN ET T. TURK.** 2015. Effect of storage solutions on microhardness of crown enamel and dentin. *European Journal of Dentistry* 9 (2):262-6.
- BALMER, R., J. TOUMBA, J. GODSON ET M. DUGGAL.** 2012. The prevalence of molar incisor hypomineralisation in Northern England and its relationship to socioeconomic status and water fluoridation. *International Journal of Paediatric Dentistry* 22 (4):250-7.
- BEAUVAL, C., L. ALONSO, M. BRUNET, H. CABART, F. CHENAL, N. CRÉPEAU, L. DAULNY, J.M. DOYEN, M. MAURY, G. FRONTEAU, S. PÉCHART, C. TRÉFFORT ET S. VALLET.** 2012. *Rapport d'opération de fouilles archéologiques Sains-en-Gohelle.*
- Beentjes, V , K Weerheijm et HJ Groen. 2000. "A match-control study into the aetiology of hypomineralized first permanent molars." 5th EAPD congress abstracts - Bergen 2000., Sept.
- BEENTJES, V. E., K. L. WEERHEIJM ET H. J. GROEN.** 2002. Factors involved in the aetiology of molar-incisor hypomineralisation (MIH). *European Journal of Paediatric Dentistry* 3 (1):9-13.
- BELCOURT, A. ET S. GILLMETH.** 1979. EDTA soluble protein of human mature normal enamel. *Calcified Tissue International* 28 (3):227-31.
- BELL, L. S., A. BOYDE ET S. J. JONES.** 1991. Diagenetic alteration to teeth in situ illustrated by backscattered electron imaging. *Scanning* 13 (2):173-183.
- BELL, LYNNE S.** 1990. Palaeopathology and diagenesis: an SEM evaluation of structural changes using backscattered electron imaging. *Journal of Archaeological Science* 17 (1):85-102.
- BENNIKE, P., M. E. LEWIS, H. SCHUTKOWSKI ET F. VALENTIN.** 2005. Comparison of child morbidity in two contrasting medieval cemeteries from Denmark. *American Journal of Physical Anthropology* 128 (4):734-46.
- BERONIUS, A., C. RUDEN, H. HAKANSSON ET A. HANBERG.** 2010. Risk to all or none? A comparative analysis of controversies in the health risk assessment of Bisphenol A. *Reproductive Toxicology* 29 (2):132-46.
- BHUSSRY, B. R.** 1958. Chemical and physical studies of enamel from human teeth. III. Specific gravity, nitrogen content, and histologic characteristics of opaque white enamel. *Journal of Dental Research* 37 (6):1054-9.
- BLAIZOT, F., G. ALIX ET E. FERBER.** 2003. Le traitement funéraire des enfants décédés avant un an dans l'Antiquité : études de cas. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 15 (1-2).
- BLAIZOT, F. ET D. CASTEX.** 2005. "Du bon usage des outils anthropologiques à l'étude des sociétés historiques." In *Origine et évolution des populations humaines*, édité par O. Dutour, J.J. Hublin and B. Vandermeersch, 259-279. : Comité des travaux historiques et scientifiques.
- BLOCH, P. ET I. M. SHAPIRO.** 1986. An x-ray fluorescence technique to measure in situ the heavy metal burdens of persons exposed to these elements in the workplace. *Journal of Occupational Medicine* 28 (8):609-14.
- BO, G.** 2000. Giuseppe Brotzu and the discovery of cephalosporins. *Clinical Microbiology and Infection* 6 Suppl 3:6-9.
- BOOOCK, P., C. A. ROBERTS ET K. MANCHESTER.** 1995. Maxillary sinusitis in Medieval Chichester, England. *American Journal of Physical Anthropology* 98 (4):483-95.
- BRICKLEY, M. ET R. IVES.** 2010. "Vitamin C Deficiency Scurvy." In *The Bioarchaeology of Metabolic Bone Disease.* : Elsevier Science.

- BRICKLEY, M., S. MAYS ET R. IVES.** 2005. Skeletal manifestations of vitamin D deficiency osteomalacia in documented historical collections. *International Journal of Osteoarchaeology* 15 (6):389-403.
- BRICKLEY, M., S. MAYS ET R. IVES.** 2010. Evaluation and interpretation of residual rickets deformities in adults. *International Journal of Osteoarchaeology* 20 (1):54-66.
- BRICKLEY, MEGAN B., TINA MOFFAT ET LELIA WATAMANIUK.** 2014. Biocultural perspectives of vitamin D deficiency in the past. *Journal of Anthropological Archaeology* 36:48-59.
- BRITO, J. S., A. SANTOS NETO, L. SILVA, R. MENEZES, N. ARAUJO, V. CARNEIRO, L. M. MORENO, J. MIRANDA, P. ALVARES, G. NEVARES, F. XAVIER, J. A. ARRUDA, R. BESSA-NOGUEIRA, N. SANTOS, G. QUEIROZ, A. P. SOBRAL, M. SILVEIRA, D. ALBUQUERQUE ET M. GERBI.** 2016. Analysis of Dental Enamel Surface Submitted to Fruit Juice Plus Soymilk by Micro X-Ray Fluorescence: In Vitro Study. *The Scientific World Journal* 2016:8123769.
- BROGARDH-ROTH, S.** 2010. The preterm child in dentistry. Behavioural aspects and oral health. *Swedish Dental Journal. Supplement* (208):11-85.
- BROGARDH-ROTH, S., L. MATSSON ET G. KLINGBERG.** 2011. Molar-incisor hypomineralization and oral hygiene in 10- to-12-yr-old Swedish children born preterm. *European Journal of Oral Sciences* 119 (1):33-9.
- BROOK, A. H., R. N. SMITH ET D. J. LATH.** 2007. The clinical measurement of tooth colour and stain. *International Dental Journal* 57 (5):324-30.
- BROWN, EMMA L., RONALD A. DIXON ET JASON W. BIRKETT.** 2014. The Discolouration of Human Teeth from Archaeological Contexts: Elemental Analysis of a Black Tooth from a Roman Cranium Recovered from the River Witham, Lincoln, UK. *Journal of Anthropology* 2014:7.
- BUNON, R.** 1743. *Essay sur les maladies des dents.*: chez Briasson, Chaubert, et De Hansy.
- CARTRON, I. ET D. CASTEX.** 2006. L'occupation d'un ancien îlot de l'estuaire de la Gironde : du temple antique à la chapelle Saint-Siméon (Jau-Dignac-et-Loirac). *Aquitania* XXII:253-282.
- CARVALHO, M. L., A. F. MARQUES, J. P. MARQUES ET C. CASACA.** 2007. Evaluation of the diffusion of Mn, Fe, Ba and Pb in Middle Ages human teeth by synchrotron microprobe X-ray fluorescence. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* 62 (6-7):702-706.
- CASTEX, D., H. DUDAY ET M. GUILLON.** 1996. "Mortalité périnatale/mortalité infantile : validité du rapport démographique et intérêt en paléontologie funéraire à propos de trois sites médiévaux." In *L'identité des populations archéologiques, XVIe Rencontres Internationales d'Archéologie et d'Histoire d'Antibes, Sophia Antipolis : ADCPA*, édité par L. Buchet, 427-441.
- CATE, A.R.T.** 1994. *Oral histology: development, structure, and function*: Mosby.
- CENTER FOR HUMAN BIOARCHAEOLOGY.** 2008. "Osteological database." <http://www.museumoflondon.org.uk/collections/other-collection-databases-and-libraries/centre-human-bioarchaeology/osteological-database>.
- CHAN, Y. L., A. H. NGAN ET N. M. KING.** 2010. Degraded prism sheaths in the transition region of hypomineralized teeth. *Journal of Dentistry* 38 (3):237-44.
- CHARLIER, P., Y. COPPENS, G. CHENE, A. AUGIAS, S. JACQUELINE, P. FROESCH ET I. HUYNH-CHARLIER.** 2017. Une archéologie de la parturition chez les pré-humains : tendances évolutives et limites. *Gynécologie Obstétrique Fertilité & Sénologie* 45 (2):67-69.
- CHAWLA, N., L. B. MESSER ET M. SILVA.** 2008. Clinical studies on molar-incisor-hypomineralisation part 2: development of a severity index. *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):191-9.

- CHEVALIER, N. 1993. "Le cimetière du couvent des Sœurs Grises de Beauvais de la fin du XVe au XVIIIe siècle, Étude des pratiques funéraires." DEA, University of Bordeaux.
- CHOLE, RICHARD A. ET HOLGER H. SUDHOFF. 2010. "Chronic Otitis Media, Mastoiditis, and Petrositis." In *Head and Neck Surgery*, édité par P.W. Flint, B.H. Haughey, J.K. Niparko, M.A. Richardson, V.J. Lund, K.T. Robbins, M.M. Lesperance and J.R. Thomas, 1963-1978. : Elsevier Health Sciences.
- CHRISTENSEN, A. M., M. A. SMITH ET R. M. THOMAS. 2012. Validation of X-ray fluorescence spectrometry for determining osseous or dental origin of unknown material. *Journal of Forensic Sciences* 57 (1):47-51.
- CHURCHILL, H. V. 1931. The occurrence of fluorides in some waters of the united states. *Journal of the American Water Works Association* 23 (9):1399-1407.
- CLARK, J.F.M. 2003. *The Burning Issue: Historical Reflections on Municipal Waste Incineration*. Vol. Short Report. Universities of Stirling and St Andrews: AHRB Research Centre for Environmental History.
- CLARKSON, J. 1992. A review of the developmental defects of enamel index (DDE Index). Commission on Oral Health, Research & Epidemiology. Report of an FDI Working Group. *International Dental Journal* 42 (6):411-26.
- CRAWFORD, P. J., M. ALDRED ET A. BLOCH-ZUPAN. 2007. Amelogenesis imperfecta. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 2:17.
- CREPEAU, NATACHA ET FANNY CHENAL. 2012a. Rapport d'opération de fouilles archéologiques Sains-en-Gohelle, Chapitre 2 étude anthropologique.
- CREPEAU, NATACHA ET FANNY CHENAL. 2012b. Rapport d'opération de fouilles archéologiques Sains-en-Gohelle, Chapitre 2 étude anthropologique p40.
- CROMBIE, F. A., D. J. MANTON, J. E. PALAMARA, I. ZALIZNIAK, N. J. COCHRANE ET E. C. REYNOLDS. 2013. Characterisation of developmentally hypomineralised human enamel. *Journal of Dentistry* 41 (7):611-8.
- CROMBIE, F., D. MANTON ET N. KILPATRICK. 2009. Aetiology of molar-incisor hypomineralization: a critical review. *International Journal of Paediatric Dentistry* 19 (2):73-83.
- CURZON, M. E., A. R. OGDEN, M. WILLIAMS-WARD ET P. E. CLEATON-JONES. 2015. Case report: A medieval case of molar-incisor-hypomineralisation. *British Dental Journal* 219 (12):583-7.
- CYNA, A. M., M. ANDREW, R. S. EMMETT, P. MIDDLETON ET S. W. SIMMONS. 2006. Techniques for preventing hypotension during spinal anaesthesia for caesarean section. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* (4):CD002251.
- D'ORTENZIO, L., I. RIBOT, E. RAGUIN, A. SCHATTMANN, B. BERTRAND, B. KAHN ET M. BRICKLEY. 2016. The rachitic tooth: A histological examination. *Journal of Archaeological Science* 74:152-163.
- DAUPHIN, YANNICKE. 2015. La fossilisation des tissus dentaires et osseux : structure, composition, implications. *Les Nouvelles de l'Archéologie* 138:5-10.
- DAUPHIN, YANNICKE ET C. TERRY WILLIAMS. 2004. Diagenetic trends of dental tissues. *Comptes Rendus Palevol* 3 (6-7):583-590.
- DAUPHIN, YANNICKE ET C. TERRY WILLIAMS. 2007. The chemical compositions of dentine and enamel from recent reptile and mammal teeth-variability in the diagenetic changes of fossil teeth. *CrystEngComm* 9 (12):1252-1261.
- DAVIS, G. R. ET F. S. WONG. 1996. X-ray microtomography of bones and teeth. *Physiological Measurement* 17 (3):121-46.
- DE SOUZA GUERRA, C., R. FERNANDA GERLACH, N. GRACIELE VILLELA PINTO, S. COUTINHO CARDOSO, S. MOREIRA, A. PEREIRA DE ALMEIDA, I. TEIXEIRA ALVES PEIXOTO, C. HENRIQUE MELONI, C. LEMOS MOTA, L. FERNANDO DE OLIVEIRA, D. BRAZ ET R. CELY BARROSO. 2010. X-ray fluorescence with synchrotron radiation to

- elemental analysis of lead and calcium content of primary teeth. *Applied Radiation and Isotopes* 68 (1):71-5.
- DENIS, M., A. ATLAN, E. VENNAT, G. TIRLET ET J. P. ATTAL.** 2013. White defects on enamel: diagnosis and anatomopathology: two essential factors for proper treatment (part 1). *International Orthodontics* 11 (2):139-65.
- DERISE, N. L. ET S. J. RITCHEY.** 1974. Mineral composition of normal human enamel and dentin and the relation of composition to dental caries. II. Microminerals. *Journal of Dental Research* 53 (4):853-8.
- DEWITTE, SHARON N. ET JELENA BEKVALAC.** 2010. Oral health and frailty in the medieval English cemetery of St Mary Graces. *American Journal of Physical Anthropology* 142 (3):341-354.
- DIETRICH, G., S. SPERLING ET G. HETZER.** 2003. Molar incisor hypomineralisation in a group of children and adolescents living in Dresden (Germany). *European Journal of Paediatric Dentistry* 4 (3):133-7.
- DOMEJEAN, S., J. RONGIER ET M. MULLER-BOLLA.** 2016. Detection of Occlusal Carious Lesion using the SoproLife(R) Camera: A Systematic Review. *The Journal of Contemporary Dental Practice* 17 (9):774-779.
- DRIESENS, F.C.M. ET R.K. VERBEECK.** 1990. *Biominerals*: Taylor & Francis.
- DUDGEON, JOHN V., S. HOMES HOGUE ET H. NEFF.** "Investigating Diagenetic Alteration as a Cause of Dental Staining in an Historic Tenant Farmer Burial." dernière modification 13/07/2017. [http://www2.isu.edu/anthro/dudgeon/pubs/Dudgeon\\_et\\_al\\_draft.pdf](http://www2.isu.edu/anthro/dudgeon/pubs/Dudgeon_et_al_draft.pdf).
- DURMUS, B., A. DURHAN, B. GOKKAYA, B. KITIKI, F. YANIKOGLU ET B. KARGUL.** 2017. A novel quantitative light-induced fluorescence device for monitoring molar-incisor hypomineralization. *Nigerian Journal of Clinical Practice* 20 (1):71-76.
- EFREMOV, IA.** 1940. Taphonomy, a new branch of paleontology. *Biology Series* 3:405–13.
- ELFRINK, M. E. C., A. GHANIM, D. J. MANTON ET K. L. WEERHEIJM.** 2015. Standardised studies on Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) and Hypomineralised Second Primary Molars (HSPM): a need. *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (3):247-255.
- ELFRINK, M. E., A. A. SCHULLER, K. L. WEERHEIJM ET J. S. VEERKAMP.** 2008. Hypomineralized second primary molars: prevalence data in Dutch 5-year-olds. *Caries Research* 42 (4):282-5.
- ELFRINK, M. E., J. M. TEN CATE, V. W. JADDOE, A. HOFMAN, H. A. MOLL ET J. S. VEERKAMP.** 2012. Deciduous molar hypomineralization and molar incisor hypomineralization. *Journal of Dental Research* 91 (6):551-5.
- ELGAR, FRANK J., TIMO-KOLJA PFÖRTNER, IRENE MOOR, BART DE CLERCQ, GONNEKE W. J. M. STEVENS ET CANDACE CURRIE.** 2015. Socioeconomic inequalities in adolescent health 2002&#x2013;2010: a time-series analysis of 34 countries participating in the Health Behaviour in School-aged Children study. *The Lancet* 385 (9982):2088-2095.
- ELHENNAWY, K., D. J. MANTON, F. CROMBIE, P. ZASLANSKY, R. J. RADLANSKI, P. G. JOST-BRINKMANN ET F. SCHWENDICKE.** 2017. Structural, mechanical and chemical evaluation of molar-incisor hypomineralization-affected enamel: A systematic review. *Archives of Oral Biology* 83:272-281.
- ESCLASSAN, R., A. M. GRIMOUD, M. P. RUAS, R. DONAT, A. SEVIN, F. ASTIE, S. LUCAS ET E. CRUBEZY.** 2009. Dental caries, tooth wear and diet in an adult medieval (12th-14th century) population from mediterranean France. *Archives of Oral Biology* 54 (3):287-97.
- ESTRADE, S., C. MAJOREL, N. TAHHAN, Y. DULAC, C. BAUNIN, I. GENNERO, Y. CHAIX, J. P. SALLES ET T. EDOUARD.** 2017. Severe nutritional rickets in young children: Resurgence of an old disease. *Archives de Pédiatrie*.

- FAGRELL, T. 2011. Molar incisor hypomineralization. Morphological and chemical aspects, onset and possible etiological factors. *Swedish Dental Journal. Supplement* (216):5, 11-83.
- FAGRELL, T. G., W. DIETZ, B. JALEVIK ET J. G. NOREN. 2010. Chemical, mechanical and morphological properties of hypomineralized enamel of permanent first molars. *Acta Odontologica Scandinavica* 68 (4):215-22.
- FAGRELL, T. G., J. LUDVIGSSON, C. ULLBRO, S. A. LUNDIN ET G. KOCH. 2011. Aetiology of severe demarcated enamel opacities--an evaluation based on prospective medical and social data from 17,000 children. *Swedish Dental Journal* 35 (2):57-67.
- FAGRELL, T. G., P. SALMON, L. MELIN ET J. G. NOREN. 2013. Onset of molar incisor hypomineralization (MIH). *Swedish Dental Journal* 37 (2):61-70.
- FARAH, R. A., B. K. DRUMMOND, M. V. SWAIN ET S. WILLIAMS. 2008. Relationship between laser fluorescence and enamel hypomineralisation. *Journal of Dentistry* 36 (11):915-21.
- FARAH, R. A., B. C. MONK, M. V. SWAIN ET B. K. DRUMMOND. 2010a. Protein content of molar-incisor hypomineralisation enamel. *Journal of Dentistry* 38 (7):591-6.
- FARAH, R. A., M. V. SWAIN, B. K. DRUMMOND, R. COOK ET M. ATIEH. 2010b. Mineral density of hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry* 38 (1):50-8.
- FARAH, R., B. DRUMMOND, M. SWAIN ET S. WILLIAMS. 2010c. Linking the clinical presentation of molar-incisor hypomineralisation to its mineral density. *International Journal of Paediatric Dentistry* 20 (5):353-60.
- FDI. 1982. Commission on Oral Health, Research and Epidemiology. An epidemiological index of developmental defects of dental enamel (DDE Index). *International Dental Journal* 32 (2):159-67.
- FEARNE, J., P. ANDERSON ET G. R. DAVIS. 2004. 3D X-ray microscopic study of the extent of variations in enamel density in first permanent molars with idiopathic enamel hypomineralisation. *British Dental Journal* 196 (10):634-8; discussion 625.
- FIGUS, CARLA, MIRKO TRAVERSARI, LUCIA MARTINA SCALISE, GREGORIO OXILIA, ANTONINO VAZZANA, LAURA BUTI, RITA SORRENTINO, GIORGIO GRUPPIONI ET STEFANO BENAZZI. 2017. The study of commingled non-adult human remains: Insights from the 16th–18th centuries community of Roccapelago (Italy). *Journal of Archaeological Science: Reports* 14:382-391.
- FLEISS, JOSEPH L. 1971. Measuring nominal scale agreement among many raters. *Psychological Bulletin* 76 (5):378-382.
- FLOOD, RODERICK ET KENNETH W. WACHTER. 1982. Poverty and Physical Stature: Evidence on the Standard of Living of London Boys 1770-1870. *Social Science History* 6 (4):422-452.
- FOGEL, I., I. PINCHUK, M. J. KUPFERMINC, D. LICHTENBERG ET O. FAINARU. 2005. Oxidative stress in the fetal circulation does not depend on mode of delivery. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 193 (1):241-6.
- FOSTER, B. L., F. H. NOCITI, JR. ET M. J. SOMERMAN. 2014. The rachitic tooth. *Endocrine Reviews* 35 (1):1-34.
- FOYE, W.O., T.L. LEMKE ET D.A. WILLIAMS. 2008. *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*: Lippincott Williams & Wilkins.
- FRASER, SARA J., ARUN K. NATARAJAN, AUSTINA S. S. CLARK, BERNADETTE K. DRUMMOND ET KEITH C. GORDON. 2015. A Raman spectroscopic study of teeth affected with molar–incisor hypomineralisation. *Journal of Raman Spectroscopy* 46 (2):202-210.
- GAMBETTA-TESSINI, K., R. MARINO, A. GHANIM, G. G. ADAMS ET D. J. MANTON. 2017. Validation of quantitative light-induced fluorescence-digital in the quantification of demarcated hypomineralized lesions of enamel. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*.
- GAO, Y., C. SAHLBERG, A. KIUKKONEN, S. ALALUUSUA, R. POHJANVIRTA, J. TUOMISTO ET P. L. LUKINMAA. 2004. Lactational exposure of Han/Wistar rats to 2,3,7,8-

- tetrachlorodibenzo-p-dioxin interferes with enamel maturation and retards dentin mineralization. *Journal of Dental Research* 83 (2):139-44.
- GARCIA-MARGARIT, M., M. CATALA-PIZARRO, J. M. MONTIEL-COMPANY ET J. M. ALMERICH-SILLA.** 2014. Epidemiologic study of molar-incisor hypomineralization in 8-year-old Spanish children. *International Journal of Paediatric Dentistry* 24 (1):14-22.
- GAROT, E.** 2012. "Etude des principales hypothèses, étiologiques de l'hypominéralisation molaires incisives sur un échantillon de 130 patients." Thèse d'exercice de chirurgie-dentaire, UFR d'odontologie, Université de Bordeaux.
- GAROT, E., C. COUTURE-VESCHAMBRE, D. MANTON, C. BEAUVAL ET P. ROUAS.** 2017a. Analytical evidence of enamel hypomineralisation on permanent and primary molars amongst past populations. *Scientific Reports* 7 (1):1712.
- GAROT, E., C. COUTURE-VESCHAMBRE, D. MANTON, V. RODRIGUEZ, Y. LEFRAIS ET P. ROUAS.** 2017b. Diagnostic guide enabling distinction between taphonomic stains and enamel hypomineralisation in an archaeological context. *Archives of Oral Biology* 74:28-36.
- GAROT, E., D. MANTON ET P. ROUAS.** 2016a. Peripartum events and molar-incisor hypomineralisation (MIH) amongst young patients in southwest France. *European Archives of Paediatric Dentistry* 4 (17):245-250.
- GAROT, E., P. ROUAS, E. D'INCAU, N. LENOIR, D. MANTON ET C. COUTURE.** 2016b. Mineral density of hypomineralised and sound enamel. *Bulletin du Groupement International pour la Recherche Scientifique en Stomatologie & Odontologie* 53 (1):26-29.
- GHANIM, A., M. ELFRINK, K. WEERHEIJM, R. MARINO ET D. MANTON.** 2015. A practical method for use in epidemiological studies on enamel hypomineralisation. *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (3):235-46.
- GHANIM, A., D. MANTON, D. BAILEY, R. MARINO ET M. MORGAN.** 2013. Risk factors in the occurrence of molar-incisor hypomineralization amongst a group of Iraqi children. *International Journal of Paediatric Dentistry* 23 (3):197-206.
- GHANIM, A., M. MORGAN, R. MARINO, D. BAILEY ET D. MANTON.** 2011. Molar-incisor hypomineralisation: prevalence and defect characteristics in Iraqi children. *International Journal of Paediatric Dentistry* 21 (6):413-21.
- GHANIM, A., M. J. SILVA, M. E. C. ELFRINK, N. A. LYGIDAKIS, R. J. MARIÑO, K. L. WEERHEIJM ET D. J. MANTON.** 2017. Molar incisor hypomineralisation (MIH) training manual for clinical field surveys and practice. *European Archives of Paediatric Dentistry* 18 (4):225-242.
- GIBBONS, L., J. BELIZÁN, J. LAUER, A. BETRÁN, M. MERIALDI ET F. ALTHABE.** 2010. World Health Report: The Global Numbers and Costs of Additionally Needed and Unnecessary Caesarean Sections Performed per Year: Overuse as a Barrier to Universal Coverage. In *Background Paper, No 30*, édité par World Health Report: World Health Organization.
- GLYN, JOHN.** 1998. The discovery and early use of cortisone. *Journal of the Royal Society of Medicine* 91 (10):513-517.
- GOLDBERG, M.** 2008. Histologie de l'email. In *EMC*. Paris: Elsevier Masson SAS.
- GOLDSTEIN, J., D.E. NEWBURY, D.C. JOY, C.E. LYMAN, P. ECHLIN, E. LIFSHIN, L. SAWYER ET J.R. MICHAEL.** 2012a. "Quantitative X-ray analysis: The basics." In *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: Third Edition*, 391-452. : Springer US.
- GOLDSTEIN, J., D.E. NEWBURY, D.C. JOY, C.E. LYMAN, P. ECHLIN, E. LIFSHIN, L. SAWYER ET J.R. MICHAEL.** 2012b. "The SEM and its mode of operations." In *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: Third Edition*, 21-29. : Springer US.
- GOLDSTEIN, J., D.E. NEWBURY, D.C. JOY, C.E. LYMAN, P. ECHLIN, E. LIFSHIN, L. SAWYER ET J.R. MICHAEL.** 2012c. "X-ray spectral measurement: EDS and WDS." In *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis: Third Edition*, 297-323. : Springer US.

- GOODMAN, A. H., G. J. ARMELAGOS ET J. C. ROSE. 1980. Enamel hypoplasias as indicators of stress in three prehistoric populations from Illinois. *Human Biology* 52 (3):515-28.
- GRANDIOSE. 2012. Map of the British city of London in around 1300. In *Wikimedia Commons*.
- GUERGOLETTE, R. P., C. C. DEZAN, W. T. FROSSARD, F. B. FERREIRA, A. CERCI NETO ET K. B. FERNANDES. 2009. Prevalence of developmental defects of enamel in children and adolescents with asthma. *Jornal Brasileiro de Pneumologia* 35 (4):295-300.
- GUSTAFSON, G. ET G. KOCH. 1974. Age estimation up to 16 years of age based on dental development. *Odontologisk Revy* 25 (3):297-306.
- GUY, H., C. MASSET ET C. A. BAUD. 1997. Infant Taphonomy. *International Journal of Osteoarchaeology* 7 (3):221-229.
- HAMBA, H., T. NIKAIDO, A. SADR, S. NAKASHIMA ET J. TAGAMI. 2012. Enamel lesion parameter correlations between polychromatic micro-CT and TMR. *Journal of Dental Research* 91 (6):586-91.
- HANSEN, A. K., K. WISBORG, N. ULDBJERG ET T. B. HENRIKSEN. 2008. Risk of respiratory morbidity in term infants delivered by elective caesarean section: cohort study. *BMJ* 336 (7635):85-7.
- HARDING, V. 1998. "Burial on the margin: distance and discrimination in early modern London." In *Grave Concerns – death and burial in England 1700-1850.*, édité par M. Cox, 54-64. : York: CBA Research Report 113, Council for British Archaeology.
- HAWKES, P. ET L. REIMER. 2013a. "Elemental analysis and imaging with X-Rays." In *Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis*, 399-406. : Springer Berlin Heidelberg.
- HAWKES, P. ET L. REIMER. 2013b. "Introduction." In *Scanning Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis*, 1-12. : Springer Berlin Heidelberg.
- HEITMULLER, D., E. THIERING, U. HOFFMANN, J. HEINRICH, D. MANTON, J. KUHNISCH, C. NEUMANN, C. P. BAUER, R. HEINRICH-WELTZIEN ET R. HICKEL. 2013. Is there a positive relationship between molar incisor hypomineralisations and the presence of dental caries? *International Journal of Paediatric Dentistry* 23 (2):116-24.
- HESS, A. F. ET L. J. UNGER. 1917. Prophylactic therapy for rickets in a negro community. *Journal of the American Medical Association* LXIX (19):1583-1586.
- HILLSON, S. 2005. *Teeth*: Cambridge University Press.
- HILLSON, S. 2007. "Introduction." In *Dental Perspectives on Human Evolution: State of the Art Research in Dental Paleoanthropology*, édité par S. E. Bailey and J. J. Hublin, xxiii-xxviii. : Springer Netherlands.
- HUANG, TIFFANY T. Y., LI-HONG HE, M. ALI DARENDELILER ET MICHAEL V. SWAIN. 2010. Correlation of mineral density and elastic modulus of natural enamel white spot lesions using X-ray microtomography and nanoindentation. *Acta Biomaterialia* 6 (12):4553-4559.
- HURME, V. O. 1949. Developmental opacities of teeth in a New England community; their relation to fluorine toxicosis. *American Journal of Diseases of Children* 77 (1):61-75.
- ICDAS FOUNDATION. "International Caries Detection and Assessment System." <https://www.icdas.org/home> Accès 26/08/2016.
- INANC, F., M. KILINC, G. KIRAN, A. GUVEN, E. B. KURUTAS, I. G. CIKIM ET O. AKYOL. 2005. Relationship between oxidative stress in cord blood and route of delivery. *Fetal Diagnosis and Therapy* 20 (5):450-3.
- IRISH, J. D. ET G. C. U. HTTP BOOKS GOOGLE FR BOOKS ID IMQEQR LGSQC NELSON. 2008. *Technique and Application in Dental Anthropology*: Cambridge University Press.
- JACKSON, D. 1961. A clinical study of non-endemic mottling of enamel. *Archives of Oral Biology* 5:212-23.
- JALEVIK, B., W. DIETZ ET J. G. NOREN. 2005. Scanning electron micrograph analysis of hypomineralized enamel in permanent first molars. *International Journal of Paediatric Dentistry* 15 (4):233-40.

- JALEVIK, B. ET J. G. NOREN.** 2000. Enamel hypomineralization of permanent first molars: a morphological study and survey of possible aetiological factors. *International Journal of Paediatric Dentistry* 10 (4):278-89.
- JALEVIK, B., J. G. NOREN, G. KLINGBERG ET L. BARREGARD.** 2001a. Etiologic factors influencing the prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in a group of Swedish children. *European Journal of Oral Sciences* 109 (4):230-4.
- JALEVIK, B., H. ODELIUS, W. DIETZ ET J. NOREN.** 2001b. Secondary ion mass spectrometry and X-ray microanalysis of hypomineralized enamel in human permanent first molars. *Archives of Oral Biology* 46 (3):239-47.
- Jalevik, BJ, G Klingberg, JG Noren et L Barregard. 2000. "Epidemiological study of idiopathic enamel hypomineralisation in permanent first molars." 5th EAPD congress abstracts - Bergen 2000, Sept.
- JAN, J., E. SOVCIKOVA, A. KOCAN, L. WSOLOVA ET T. TRNOVEC.** 2007. Developmental dental defects in children exposed to PCBs in eastern Slovakia. *Chemosphere* 67 (9):S350-4.
- JAN, J. ET V. VRBIC.** 2000. Polychlorinated biphenyls cause developmental enamel defects in children. *Caries Research* 34 (6):469-73.
- JEDON, K., M. DE LA DURE-MOLLA, S. J. BROOKES, S. LOIODICE, C. MARCIANO, J. KIRKHAM, M. C. CANIVENC-LAVIER, S. BOUDALIA, R. BERGES, H. HARADA, A. BERDAL ET S. BABAJKO.** 2013. Enamel defects reflect perinatal exposure to bisphenol A. *The American Journal of Pathology* 183 (1):108-18.
- JEREMIAS, F., M. KORUYUCU, E. C. KUCHLER, M. BAYRAM, E. B. TUNA, K. DEELEY, R. A. PIERRI, J. F. SOUZA, C. M. FRAGELLI, M. A. PASCHOAL, K. GENÇAY, F. SEYMEN, R. M. CAMINAGA, L. DOS SANTOS-PINTO ET A. R. VIEIRA.** 2013. Genes expressed in dental enamel development are associated with molar-incisor hypomineralization. *Archives of Oral Biology* 58 (10):1434-42.
- JEREMIAS, F., R. A. PIERRI, J. F. SOUZA, C. M. FRAGELLI, M. RESTREPO, L. S. FINOTI, D. G. BUSSANELI, R. C. CORDEIRO, R. SECOLIN, C. V. MAURER-MORELLI, R. M. SCAREL-CAMINAGA ET L. SANTOS-PINTO.** 2016. Family-Based Genetic Association for Molar-Incisor Hypomineralization. *Caries Research* 50 (3):310-8.
- JOHNSON, JENA E., SAMUEL M. WEBB, CHI MA ET WOODWARD W. FISCHER.** 2016. Manganese mineralogy and diagenesis in the sedimentary rock record. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 173:210-231.
- JULIAN, P.L., W.J. KARPEL, E.W. MEYER ET C.J. WAYNE.** 1956. Preparation of cortisone. : Google Patents.
- KIERDORF, H., C. WITZEL, B. UPEX, K. DOBNEY ET U. KIERDORF.** 2012. Enamel hypoplasia in molars of sheep and goats, and its relationship to the pattern of tooth crown growth. *Journal of Anatomy* 220 (5):484-495.
- KOCH, G., A. L. HALLONSTEN, N. LUDVIGSSON, B. O. HANSSON, A. HOLST ET C. ULLBRO.** 1987. Epidemiologic study of idiopathic enamel hypomineralization in permanent teeth of Swedish children. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 15 (5):279-85.
- KOHN, MATTHEW J., MARGARET J. SCHOENINGER ET WILLIAM W. BARKER.** 1999. Altered states: effects of diagenesis on fossil tooth chemistry. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 63 (18):2737-2747.
- KONG, KENNY ET IOAN NOTINGHER.** 2016. "Raman Spectroscopy Techniques: Developments and Applications in Translational Medicine." In *Frontiers in Biophotonics for Translational Medicine: In the Celebration of Year of Light*, édité par Malini Olivo and S. U. Dinish, 111-133. Singapore: Springer Singapore.
- KOSTLAN, J. ET A. PLACKOVA.** 1962. The histological investigation of the developmental hypomineralized areas of the enamel and their comparison with the carious lesion. *Archives of Oral Biology* 7:317-26.

- KRENZ-NIEDBALA, MARTA.** 2017. Growth and health status of children and adolescents in medieval Central Europe. *Anthropological Review* 80 (1):1.
- KUCUK, EYUP BURAK, SIDDIK MALKOC ET ABDULLAH DEMIR.** 2016. Microcomputed tomography evaluation of white spot lesion remineralization with various procedures. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 150 (3):483-490.
- KUHNISCH, J., A. LAUENSTEIN, V. PITCHIKA, G. MCGLYNN, A. STASKIEWICZ, R. HICKEL ET G. GRUPE.** 2016. Was molar incisor hypomineralisation (MIH) present in archaeological case series? *Clinical Oral Investigations* 9 (20):1-7.
- KUHNISCH, J., D. MACH, E. THIERING, I. BROCKOW, U. HOFFMANN, C. NEUMANN, R. HEINRICH-WELTZIEN, C. P. BAUER, D. BERDEL, A. VON BERG, S. KOLETZKO, F. GARCIA-GODOY, R. HICKEL ET J. HEINRICH.** 2014a. Respiratory diseases are associated with molar-incisor hypomineralizations. *Swiss Dental Journal* 124 (3):286-93.
- KUHNISCH, J., E. THIERING, D. HEITMULLER, C. M. TIESLER, H. GRALLERT, R. HEINRICH-WELTZIEN, R. HICKEL, J. HEINRICH, GINI- PLUS STUDY GROUP ET L. ISA-10PLUS STUDY GROUP.** 2014b. Genome-wide association study (GWAS) for molar-incisor hypomineralization (MIH). *Clinical Oral Investigations* 18 (2):677-82.
- KUHNISCH, J., E. THIERING, J. KRATZSCH, R. HEINRICH-WELTZIEN, R. HICKEL ET J. HEINRICH.** 2015. Elevated serum 25(OH)-vitamin D levels are negatively correlated with molar-incisor hypomineralization. *Journal of Dental Research* 94 (2):381-7.
- KUKLEVA, M. P., S. G. PETROVA, V. K. KONDEVA ET T. I. NIHTYANOVA.** 2008. Molar incisor hypomineralisation in 7-to-14-year old children in Plovdiv, Bulgaria--an epidemiologic study. *Folia Medica* 50 (3):71-5.
- KUSCU, O. O., E. CAGLAR, S. ASLAN, E. DURMUSOGLU, A. KARADEMIR ET N. SANDALLI.** 2009. The prevalence of molar incisor hypomineralization (MIH) in a group of children in a highly polluted urban region and a windfarm-green energy island. *International Journal of Paediatric Dentistry* 19 (3):176-85.
- KUSCU, O. O., N. SANDALLI, S. DIKMEN, O. ERSOY, I. TATAR, I. TURKMEN ET E. CAGLAR.** 2013. Association of amoxicillin use and molar incisor hypomineralization in piglets: visual and mineral density evaluation. *Archives of Oral Biology* 58 (10):1422-33.
- LAFORST, C., D. CASTEX, I. CARTRON ET P. MURAIL.** 2012. Microévolution d'une population historique sur les rives de l'estuaire de la Gironde. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 24 (1-2):12-24.
- LAISI, S., A. ESS, C. SAHLBERG, P. ARVIO, P. L. LUKINMAA ET S. ALALUUSUA.** 2009. Amoxicillin may cause molar incisor hypomineralization. *Journal of Dental Research* 88 (2):132-6.
- LAISI, S., H. KIVIRANTA, P. L. LUKINMAA, T. VARTIAINEN ET S. ALALUUSUA.** 2008. Molar-incisor-hypomineralisation and dioxins: new findings. *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):224-7.
- LANDIS, J. R. ET G. G. KOCH.** 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33 (1):159-74.
- LANG, J., S. BIRKENBEIL, S. BOCK, R. HEINRICH-WELTZIEN ET K. KROMEYER-HAUSCHILD.** 2016. Dental enamel defects in German medieval and early-modern-age populations. *Anthropologischer Anzeiger* 73 (4):343-354.
- LE CABEC, A., N. TANG ET P. TAFFOREAU.** 2015. Accessing developmental information of fossil hominin teeth using new synchrotron microtomography-based visualization techniques of dental surfaces and interfaces. *PloS One* 10 (4):e0123019.
- LEDERMANN, M.S.** 1969. *Nouvelles tables-types de mortalité*: Presses Universitaires de France.
- Leppaniemi, A, PL Lukinmaa et S Alaluusua. 2000. "Nonfluoride hypomineralization in the permanent first molars." 5th EAPD congress abstracts - Bergen 2000, Sept.

- LEPPANIEMI, A., P. L. LUKINMAA ET S. ALALUUSUA.** 2001. Nonfluoride hypomineralizations in the permanent first molars and their impact on the treatment need. *Caries Research* 35 (1):36-40.
- LEWIS, M. E., C. A. ROBERTS ET K. MANCHESTER.** 1995. Comparative study of the prevalence of maxillary sinusitis in later Medieval urban and rural populations in northern England. *American Journal of Physical Anthropology* 98 (4):497-506.
- LICHTMAN, M.A.** 2012. "Historical Landmarks in the Understanding of the Lymphomas." In *Neoplastic Diseases of the Blood*, édité par P.H. Wiernik, Goldman, J.M., Dutcher, J.P., Kyle, R.A. , 809. : Springer New York.
- LIGNON, G., F. BERES, M. QUENTRIC, S. ROUZIERE, R. WEIL, M. DE LA DURE-MOLLA, A. NAVEAU, R. KOZYRAKI, A. DESSOMBZ ET A. BERDAL.** 2017. FAM20A Gene Mutation: Amelogenesis or Ectopic Mineralization? *Frontiers in Physiology* 8:267.
- LIGNON, GUILHEM, MURIEL DE LA DURE-MOLLA, ARNAUD DESSOMBZ, ARIANE BERDAL ET SYLVIE BABAJKO.** 2015. L'email-Un autoassemblage unique dans le monde du minéral. *Médecine/sciences* 31 (5):515-521.
- LOLI, D., M. COSTACURTA, P. MATURO ET R. DOCIMO.** 2015. Correlation between aerosol therapy in early childhood and Molar Incisor Hypomineralisation. *European Journal of Paediatric Dentistry* 16 (1):73-7.
- LUCAS, S., A. SEVIN, O. PASSARIUS, R. ESCLASSAN, E. CRUBEZY ET A. M. GRIMOUD.** 2010. Study of dental caries and periapical lesions in a mediaeval population of the southwest France: Differences in visual and radiographic inspections. *HOMO-Journal of Comparative Human Biology* 61 (5):359-372.
- LYGIDAKIS, N. A., G. DIMOU ET E. BRISENIOU.** 2008a. Molar-incisor-hypomineralisation (MIH). Retrospective clinical study in Greek children. I. Prevalence and defect characteristics. *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):200-6.
- LYGIDAKIS, N. A., G. DIMOU ET D. MARINOU.** 2008b. Molar-incisor-hypomineralisation (MIH). A retrospective clinical study in Greek children. II. Possible medical aetiological factors. *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):207-17.
- LYGIDAKIS, N. A., F. WONG, B. JALEVIK, A. M. VIERROU, S. ALALUUSUA ET I. ESPELID.** 2010. Best Clinical Practice Guidance for clinicians dealing with children presenting with Molar-Incisor-Hypomineralisation (MIH): An EAPD Policy Document. *European Archives of Paediatric Dentistry* 11 (2):75-81.
- MAHONEY, E. K., R. ROHANIZADEH, F. S. ISMAIL, N. M. KILPATRICK ET M. V. SWAIN.** 2004. Mechanical properties and microstructure of hypomineralised enamel of permanent teeth. *Biomaterials* 25 (20):5091-100.
- MAJO, TONA.** 1992. Ontogénèse de l'os coxal et détermination sexuelle : l'importance de l'ilium. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris* 4 (1):53-65.
- MANGUM, J. E., F. A. CROMBIE, N. KILPATRICK, D. J. MANTON ET M. J. HUBBARD.** 2010. Surface integrity governs the proteome of hypomineralized enamel. *Journal of Dental Research* 89 (10):1160-5.
- MANSILLA, J., C. SOLIS, M. E. CHAVEZ-LOMELI ET J. E. GAMA.** 2003. Analysis of colored teeth from Precolumbian Tlatelolco: postmortem transformation or intravital processes? *American Journal of Physical Anthropology* 120 (1):73-82.
- MARESH, M ET V BEAL.** 1970. "A longitudinal survey of nutrition intake, body size, and tissue measurements in healthy subjects during growth." In *Monographs of the society for research in child development.*, 33-39.
- MARKLEIN, K. E. ET D. E. CREWS.** 2017. Frail or hale: Skeletal frailty indices in Medieval London skeletons. *PloS One* 12 (5):e0176025.
- MARKLEIN, K. E., R. E. LEAHY ET D. E. CREWS.** 2016. In sickness and in death: Assessing frailty in human skeletal remains. *American Journal of Physical Anthropology* 161 (2):208-25.

- MARMOT, M. ET R. WILKINSON. 2005. "Early life." In *Social Determinants of Health*. : Oxford.
- MARTINEZ GOMEZ, T. P., F. GUINOT JIMENO, L. J. BELLET DALMAU ET L. GINER TARRIDA. 2012. Prevalence of molar-incisor hypomineralisation observed using transillumination in a group of children from Barcelona (Spain). *International Journal of Paediatric Dentistry* 22 (2):100-9.
- MATSUNAGA, T., H. ISHIZAKI, S. TANABE ET Y. HAYASHI. 2009. Synchrotron radiation microbeam X-ray fluorescence analysis of zinc concentration in remineralized enamel in situ. *Archives of Oral Biology* 54 (5):420-3.
- MATTHAUS, C., B. BIRD, M. MILJKOVIC, T. CHERNENKO, M. ROMEO ET M. DIEM. 2008. Chapter 10: Infrared and Raman microscopy in cell biology. *Methods in Cell Biology* 89:275-308.
- MCKAY, S., R. FARAH, J. M. BROADBENT, N. TAYLES ET S. E. HALCROW. 2013. Is it health or the burial environment: differentiating between hypomineralised and post-mortem stained enamel in an archaeological context. *PloS One* 8 (5):e64573.
- MECKEL, A. H., W. J. GRIEBSTEIN ET R. J. NEAL. 1965. Structure of mature human dental enamel as observed by electron microscopy. *Archives of Oral Biology* 10 (5):775-783.
- MELLER, C., I. URZUA, G. MONCADA ET C. VON OHLE. 2009. Prevalence of oral pathologic findings in an ancient pre-Columbian archeological site in the Atacama Desert. *Oral Diseases* 15 (4):287-94.
- MEYER, A. 2016. Assessment of diet and recognition of nutritional deficiencies in paleopathological studies: A review. *Clinical Anatomy* 29 (7):862-869.
- MITTAL, N. ET B. B. SHARMA. 2015. Hypomineralised second primary molars: prevalence, defect characteristics and possible association with Molar Incisor Hypomineralisation in Indian children. *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (6):441-7.
- MITTEROECKER, P., S. M. HUTTEGGER, B. FISCHER ET M. PAVLICEV. 2016. Cliff-edge model of obstetric selection in humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (51):14680-14685.
- MOORREES, C. F., E. A. FANNING ET E. E. HUNT, JR. 1963a. Age variation of formation stages for ten permanent teeth. *Journal of Dental Research* 42:1490-502.
- MOORREES, C. F., E. A. FANNING ET E. E. JR. HUNT. 1963b. Formation and resorption of three deciduous teeth in children. *American Journal of Physical Anthropology*, 21:205-13.
- MURATBEGOVIC, A., N. MARKOVIC ET M. GANIBEGOVIC SELIMOVIC. 2007. Molar incisor hypomineralisation in Bosnia and Herzegovina: aetiology and clinical consequences in medium caries activity population. *European Archives of Paediatric Dentistry* 8 (4):189-94.
- MURPHY, H W. 1962. Erythromycin compounds. : Google Patents.
- NANCI, A ET M GOLDBERG. 2001. "Chapitre 3. Structure des dents Email." In *La dent normale et pathologique*, édité par E. Piette and M. Goldberg, 242. : De Boeck Université.
- NANCI, A. 2008. "Structure of the oral tissues." In *Ten Cate's Oral Histology: Development, Structure, and Function*, 1-13. : Mosby Elsevier.
- NEGRE-BARBER, A., J. M. MONTIEL-COMPANY, M. BORONAT-CATALA, M. CATALA-PIZARRO ET J. M. ALMERICH-SILLA. 2016. Hypomineralized Second Primary Molars as Predictor of Molar Incisor Hypomineralization. *Scientific Reports* 6:31929.
- NEWMAN, S. L. ET R. L. GOWLAND. 2017. Dedicated Followers of Fashion? Bioarchaeological Perspectives on Socio-Economic Status, Inequality, and Health in Urban Children from the Industrial Revolution (18th–19th C), England. *International Journal of Osteoarchaeology* 27 (2):217-229.
- NGANVONGPANIT, KORAKOT, KITTISAK BUDDHACHAT, PROMPORN PIBOON, THIPPAPORN EUPPAYO ET PASUK MAHAKKANUKRAUH. 2017. Variation in elemental composition of human teeth and its application for feasible species identification. *Forensic Science International* 271:33-42.

- NIELSEN-MARSH, C. M. ET R. E. M. HEDGES. 2000. Patterns of diagenesis in bone I: The effects of site environments. *Journal of Archaeological Science* 27 (12):1130-1150.
- NIELSEN-MARSH, C. M., C. I. SMITH, M. M. E. JANS, A. NORD, H. KARS ET M. J. COLLINS. 2007. Bone diagenesis in the European Holocene II: taphonomic and environmental considerations. *Journal of Archaeological Science* 34 (9):1523-1531.
- NOVAK, M. 2015. Dental health and diet in early medieval Ireland. *Archives of Oral Biology* 60 (9):1299-309.
- NOVAK, M., O. MARTINČIĆ, D. STRINOVIĆ ET M. ŠLAUS. 2012. Skeletal and dental indicators of health in the late mediaeval (12–15th century) population from Nin, southern Croatia. *HOMO-Journal of Comparative Human Biology* 63 (6):435-450.
- O'RIORDAN, JEFFREY L. H. ET OLAV L. M. BIJVOET. 2014. Rickets before the discovery of vitamin D. *BoneKEy* 3.
- OGDEN, A. R., R. PINHASI ET W. J. WHITE. 2007. Gross enamel hypoplasia in molars from subadults in a 16th-18th century London graveyard. *American Journal of Physical Anthropology* 133 (3):957-66.
- OGDEN, A. R., R. PINHASI ET W. J. WHITE. 2008. Nothing new under the heavens: MIH in the past? *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):166-71.
- OLEJNICZAK, A. J. ET F. E. GRINE. 2006. Assessment of the accuracy of dental enamel thickness measurements using microfocal X-ray computed tomography. *The Anatomical Record. Part A, Discoveries in Molecular, Cellular, and Evolutionary Biology* 288 (3):263-75.
- OLEJNICZAK, A. J., T. M. SMITH, R. N. FEENEY, R. MACCHIARELLI, A. MAZURIER, L. BONDIOLI, A. ROSAS, J. FORTEA, M. DE LA RASILLA, A. GARCIA-TABERNERO, J. RADOVCIC, M. M. SKINNER, M. TOUSSAINT ET J. J. HUBLIN. 2008. Dental tissue proportions and enamel thickness in Neandertal and modern human molars. *Journal of Human Evolution* 55 (1):12-23.
- OLEJNICZAK, A. J., P. TAFFOREAU, T. M. SMITH, H. TEMMING ET J. J. HUBLIN. 2007. Technical note: compatibility of microtomographic imaging systems for dental measurements. *American Journal of Physical Anthropology* 134 (1):130-4.
- OLEJNICZAK, A.J. 2006. "Micro-computed tomography of primate molars." Doctorat, New York: Université Stony Brook.
- OLIVER, K., L. B. MESSER, D. J. MANTON, K. KAN, F. NG, C. OLSEN, J. SHEAHAN, M. SILVA ET N. CHAWLA. 2013. Distribution and severity of molar hypomineralisation: trial of a new severity index. *International Journal of Paediatric Dentistry*.
- ORTNER, D.J. 2003. *Identification of Pathological Conditions in Human Skeletal Remains*: Elsevier Science.
- ORTNER, DONALD J. 2011. Human skeletal paleopathology. *International Journal of Paleopathology* 1 (1):4-11.
- OXENHAM, MARC F., CORNELIA LOCHER, NGUYEN LAN CUONG ET NGUYEN KIM THUY. 2002. Identification of Areca catechu (Betel Nut) Residues on the Dentitions of Bronze Age Inhabitants of Nui Nap, Northern Vietnam. *Journal of Archaeological Science* 29 (9):909-915.
- PEARCE, E. I. ET D. G. NELSON. 1989. Microstructural features of carious human enamel imaged with back-scattered electrons. *Journal of Dental Research* 68 (2):113-8.
- PETROU, M. A., M. GIRAKI, A. R. BISSAR, C. WEMPE, M. SCHAFFER, U. SCHIFFNER, T. BEIKLER, A. G. SCHULTE ET C. H. SPLIETH. 2015. Severity of MIH findings at tooth surface level among German school children. *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (3):271-6.
- PETTIFOR, J. M. 2004. Nutritional rickets: deficiency of vitamin D, calcium, or both? *The American Journal of Clinical Nutrition* 80 (6 Suppl):1725s-9s.
- PIMENTEL, L. 2003. Scurvy: historical review and current diagnostic approach. *The American Journal of Emergency Medicine* 21 (4):328-32.

- PINDBORG, J.J.** 1970. *Pathology of the Dental Hard Tissues*: Saunders.
- PITIPHAT, W., S. LUANGCHAICHAWENG, P. PUNGCHANCHAIKUL, O. ANGWARAVONG ET N. CHANSAMAK.** 2014a. Factors associated with molar incisor hypomineralization in Thai children. *European Journal of Oral Sciences* 122 (4):265-70.
- PITIPHAT, W., R. SAVISIT, N. CHANSAMAK ET A. SUBARNBHESAJ.** 2014b. Molar incisor hypomineralization and dental caries in six- to seven-year-old Thai children. *Pediatric Dentistry* 36 (7):478-82.
- POOLE, D. F. G. ET E. K. TRATMAN.** 1978. Post-mortem changes in human teeth from late upper Palaeolithic/Mesolithic occupants of an English limestone cave. *Archives of Oral Biology* 23 (12):1115-1120.
- PORTER, R.** 1998. *London: A Social History*: Harvard University Press.
- QUREISHI, A., Y. LEE, K. BELFIELD, J. P. BIRCHALL ET M. DANIEL.** 2014. Update on otitis media - prevention and treatment. *Infection and Drug Resistance* 7:15-24.
- QVIST, M. ET A. M. GRONTVED.** 2000. Auditory ossicles in archaeological skeletal material from medieval Denmark. *Acta Oto-Laryngologica. Supplementum* 543:82-5.
- QVIST, M. ET A. M. GRONTVED.** 2001. Chronic otitis media sequelae in skeletal material from medieval Denmark. *The Laryngoscope* 111 (1):114-8.
- RASMUSSEN, C. G. ET M. A. ERIKSSON.** 2001. Celiac disease and mineralisation disturbances of permanent teeth. *International Journal of Paediatric Dentistry* 11 (3):179-83.
- REICHE, I. ET E. CHALMIN.** 2008. Synchrotron radiation and cultural heritage: Combined XANES/XRF study at Mn K-edge of blue, grey or black coloured palaeontological and archaeological bone material. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23 (6):799-806.
- REICHE, INA, GUILLAUME MORIN, CHRISTIAN BROUDER, VICENTE ARMANDO SOLE, PIERRE-EMMANUEL PETIT, COLETTE VIGNAUD, THOMAS CALLIGARO ET MENU MICHEL.** 2002. Manganese accommodation in fossilised mastodon ivory and heat-induced colour transformation. *European Journal of Mineralogy* 14 (6):1069-1073.
- REID, D. J. ET M. C. DEAN.** 2000. Brief communication: the timing of linear hypoplasias on human anterior teeth. *American Journal of Physical Anthropology* 113 (1):135-9.
- RIBOT, ISABELLE ET CHARLOTTE ROBERTS.** 1996. A Study of Non-specific Stress Indicators and Skeletal Growth in Two Mediaeval Subadult Populations. *Journal of Archaeological Science* 23 (1):67-79.
- RICHTER, C. A., L. S. BIRNBAUM, F. FARABOLLINI, R. R. NEWBOLD, B. S. RUBIN, C. E. TALSNESS, J. G. VANDENBERGH, D. R. WALSER-KUNTZ ET F. S. VOM SAAL.** 2007. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology* 24 (2):199-224.
- ROBERTS, C. A.** 2007. A bioarcheological study of maxillary sinusitis. *American Journal of Physical Anthropology* 133 (2):792-807.
- ROBERTS, C.A. ET M. COX.** 2003. *Health and disease in Britain from Prehistory to the Present Day*. p391-403. Edited by Stroud: Sutton Publishing Ltd.
- ROBERTS, CHARLOTTE ANN.** 2016. Palaeopathology and its relevance to understanding health and disease today: the impact of the environment on health, past and present. *Anthropological Review* 79 (1):1.
- ROCHESTER, J. R. ET A. L. BOLDEN.** 2015. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives* 123 (7):643-50.
- RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, L., J. L. RUVALCABA-SIL, M. A. ONTALBA-SALAMANCA, J. A. ROMAN-BERRELLEZA, M. L. GALLARDO, D. M. GRIMALDI, O. G. DE LUCIO ET J. MIRANDA.** 1999. Ion beam analysis of ancient Mexican colored teeth from archaeological sites in Mexico City. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 150 (1):663-666.

- ROSENBERG, KAREN R.** 1992. The evolution of modern human childbirth. *American Journal of Physical Anthropology* 35 (S15):89-124.
- ROUAS, P, D BANDON, J-P DRUO, Y DELBOS, F D'ARBONNEAU ET L-F JACQUELIN.** 2010. Hypominéralisations molaires-incisives (M.I.H.). *Revue Francophone d'Odontologie Pédiatrique* 5 (4):1-12.
- ROUAS, P, E GAROT, A-M TILLIER ET P MURAIL.** 2012. "Dialogue entre archéoanthropologues et odontologistes pédiatriques : le cas des hypominéralisations molaires-incisives." Journées Internationales de la Société d'Anthropologie de Paris, 26 janvier 2012.
- ROUAS, PATRICK.** 2012. L' hypominéralisation molaires-incisives. In *Rapport d'opération de fouilles archéologiques : Sains-en-Gohelle 227 rue Lamartine.*, édité par Cédric Beauval.
- ROUESSAC, F., A. ROUESSAC ET D. CRUCHE.** 2004a. *Analyse chimique - 6e éd.: Méthodes et techniques instrumentales modernes*: Dunod.
- ROUESSAC, F., A. ROUESSAC ET D. CRUCHE.** 2004b. "Spectrométrie de fluorescence X." In *Analyse chimique - Méthodes et techniques instrumentales modernes*, édité par Dunod, 223.
- RUBIN, B. S.** 2011. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 127 (1-2):27-34.
- RUCH, J.V.** 2001. "Chapitre 1. Développement dentaire normal." In *La dent normale et pathologique*, édité par E. Piette and M. Goldberg, 242. : De Boeck Université.
- RUTLEY, F.** 1916. *Elements of Mineralogy*. 19 ed, *PART II Description of mineral species*. London: Springer Netherlands.
- SA, Y., S. LIANG, X. MA, S. LU, Z. WANG, T. JIANG ET Y. WANG.** 2014. Compositional, structural and mechanical comparisons of normal enamel and hypomaturational enamel. *Acta Biomaterialia* 10 (12):5169-77.
- SARNAT, BERNARD G. ET ISAAC SCHOUR.** 1941. Enamel Hypoplasia (Chronologic Enamel Aplasia) in Relation to Systemic Disease: A Chronologic, Morphologic and Etiologic Classification. *The Journal of the American Dental Association* 28 (12):1989-2000.
- SAVAS, S., F. KAVRIK ET E. KUCUKYILMAZ.** 2016. Evaluation of the remineralization capacity of CPP-ACP containing fluoride varnish by different quantitative methods. *Journal of Applied Oral Science* 24 (3):198-203.
- SCHAEFER, MAUREEN, SUE BLACK ET LOUISE SCHEUER.** 2009. "Chapter 2 - The Dentition." In *Juvenile Osteology*, 67-95. San Diego: Academic Press.
- SCHEUER, LOUISE ET SUE BLACK.** 2000. "CHAPTER TWO - Skeletal Development and Ageing." In *Developmental Juvenile Osteology*, 4-17. London: Academic Press.
- SCHULZE, K. A., M. BALOOCH, G. BALOOCH, G. W. MARSHALL ET S. J. MARSHALL.** 2004. Micro-Raman spectroscopic investigation of dental calcified tissues. *Journal of Biomedical Materials Research. Part A* 69 (2):286-93.
- SEOW, W. K.** 1996. A study of the development of the permanent dentition in very low birthweight children. *Pediatric Dentistry* 18 (5):379-84.
- SERNA, C., A. VICENTE, C. FINKE ET A. J. ORTIZ.** 2016. Drugs related to the etiology of molar incisor hypomineralization: A systematic review. *Journal of the American Dental Association* 147 (2):120-30.
- SHACKLEY, M. STEVEN.** 2011. "An Introduction to X-Ray Fluorescence (XRF) Analysis in Archaeology." In *X-Ray Fluorescence Spectrometry (XRF) in Geoarchaeology*, édité par Steven M. Shackley, 7-44. New York, NY: Springer New York.
- SHAHMORADI, MAHDI ET MICHAEL V. SWAIN.** 2016. Quantitative characterization and micro-CT mineral mapping of natural fissural enamel lesions. *Journal of Dentistry* 46:23-29.
- SHEPHERD, WILLIAM.** 1911. "Plan of London about 1300." In *Historical Atlas.*, édité par New York: Henry Holt and Company, 75.

- SHIPMAN, PAT, GIRAUD FOSTER ET MARGARET SCHOENINGER. 1984. Burnt bones and teeth: an experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage. *Journal of Archaeological Science* 11 (4):307-325.
- SHORE, R. C., B. BACKMAN, S. J. BROOKES, J. KIRKHAM, S. R. WOOD ET C. ROBINSON. 2002. Inheritance pattern and elemental composition of enamel affected by hypomaturation amelogenesis imperfecta. *Connective Tissue Research* 43 (2-3):466-71.
- SILVA, M. J., K. J. SCURRAH, J. M. CRAIG, D. J. MANTON ET N. KILPATRICK. 2016. Etiology of molar incisor hypomineralization - A systematic review. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 44 (4):342-53.
- SIMMONS, LISA M., JANET MONTGOMERY, JULIA BEAUMONT, GRAHAM R. DAVIS ET MAISOON AL-JAWAD. 2013. Mapping the spatial and temporal progression of human dental enamel biomineralization using synchrotron X-ray diffraction. *Archives of Oral Biology* 58 (11):1726-1734.
- SMITH, F. C. 1916. Mottled Enamel and Brown Stain: A Condition Affecting the Teeth in Certain Localities. *Public Health Reports* 31 (42):2915-2918.
- SMITH, H. 1991. "Standards of human tooth formation and dental age assessment." In *Advances in Dental Anthropology*, édité par Marc A. Kelley et Clark Spencer Larsen, 143-168.
- SONMEZ, H., G. YILDIRIM ET T. BEZGIN. 2013. Putative factors associated with molar incisor hypomineralisation: an epidemiological study. *European Archives of Paediatric Dentistry* 14 (6):375-80.
- SOUZA, J. F., C. M. COSTA-SILVA, F. JEREMIAS, L. SANTOS-PINTO, A. C. ZUANON ET R. C. CORDEIRO. 2012. Molar incisor hypomineralisation: possible aetiological factors in children from urban and rural areas. *European Archives of Paediatric Dentistry* 13 (4):164-70.
- SOVIERO, V., D. HAUBEK, C. TRINDADE, T. DA MATTA ET S. POULSEN. 2009. Prevalence and distribution of demarcated opacities and their sequelae in permanent 1st molars and incisors in 7 to 13-year-old Brazilian children. *Acta Odontologica Scandinavica* 67 (3):170-5.
- SPONHEIMER, MATT ET JULIA A. LEE-THORP. 1999. Alteration of Enamel Carbonate Environments during Fossilization. *Journal of Archaeological Science* 26 (2):143-150.
- SPOOR, C. F., F. W. ZONNEVELD ET G. A. MACHO. 1993. Linear measurements of cortical bone and dental enamel by computed tomography: applications and problems. *American Journal of Physical Anthropology* 91 (4):469-84.
- STEADMAN, L. T., F. BRUDEVOLD, F. A. SMITH, D. E. GARDNER ET M. F. LITTLE. 1959. Trace Elements in Ancient Indian Teeth. *Journal of Dental Research* 38 (2):285-292.
- STERMER BEYER-OLSEN, E. M. ET S. RISNES. 1993. Occurrence and distribution of blackish staining on the crowns of human teeth obtained from an archeological excavation of a medieval site in Norway. *Scandinavian Journal of Dental Research* 101 (2):65-71.
- STERMER, E. M., S. RISNES ET P. M. FISCHER. 1996. Trace element analysis of blackish staining on the crowns of human archaeological teeth. *European Journal of Oral Sciences* 104 (3):253-61.
- STIPISIC, ANGELA, MAJA VERSIC-BRATINCEVIC, ZLATKA KNEZOVIC ET DAVORKA SUTLOVIC. 2014. Metal content in medieval skeletal remains from Southern Croatia. *Journal of Archaeological Science* 46:393-400.
- STONE, P. K. 2016. Biocultural perspectives on maternal mortality and obstetrical death from the past to the present. *American Journal of Physical Anthropology* 159:S150-S171.
- SUCKLING, G. W. 1989. Developmental defects of enamel--historical and present-day perspectives of their pathogenesis. *Advances in Dental Research* 3 (2):87-94.
- TAFFOREAU, P. ET T. M. SMITH. 2008. Nondestructive imaging of hominoid dental microstructure using phase contrast X-ray synchrotron microtomography. *Journal of Human Evolution* 54 (2):272-8.

- TAFFOREAU, P., J. P. ZERMENO ET T. M. SMITH.** 2012. Tracking cellular-level enamel growth and structure in 4D with synchrotron imaging. *Journal of Human Evolution* 62 (3):424-8.
- TAPIAS-LEDESMA, M. A., R. JIMENEZ, F. LAMAS, A. GONZALEZ, P. CARRASCO ET A. GIL DE MIGUEL.** 2003. Factors associated with first molar dental enamel defects: a multivariate epidemiological approach. *Journal of Dentistry for Children* 70 (3):215-20.
- TAUBE, F., M. MARCZEWSKI ET J. G. NOREN.** 2015. Deviations of inorganic and organic carbon content in hypomineralised enamel. *Journal of Dentistry* 43 (2):269-78.
- TEAM, R CORE.** 2013. R: A language and environment for statistical computing.
- TEUL, I., J. LORKOWSKI, W. LORKIEWICZ ET D. NOWAKOWSKI.** 2013. Sinusitis in people living in the medieval ages. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 788:133-8.
- THESLEFF, I.** 2003. Epithelial-mesenchymal signalling regulating tooth morphogenesis. *Journal of Cell Science* 116 (Pt 9):1647-8.
- THEUNS, H. M., J. W. VAN DIJK, W. L. JONGEBLOED ET A. GROENEVELD.** 1983. The mineral content of human enamel studied by polarizing microscopy, microradiography and scanning electron microscopy. *Archives of Oral Biology* 28 (9):797-803.
- THIBAUT R., VINCKE G., DEPIEREUX E. ET RAES M.** 2007. Atlas d'Histologie humaine et animale. Version 1.2. : <http://webapps.fundp.ac.be/umdb/histohuma/>.
- THORN, GEORGE W., PETER H. FORSHAM, THOMAS F. FRAWLEY, D. LAURENCE WILSON, ALBERT E. RENOLD, DONALD S. FREDRICKSON ET DALTON JENKINS.** 1951. Advances in the diagnosis and treatment of adrenal insufficiency. *The American Journal of Medicine* 10 (5):595-611.
- TOMCZYK, J., J. KOMARNITKI, M. ZALEWSKA, T. LEKSZYCKI ET D. OLCZAK-KOWALCZYK.** 2014. Fluorescence methods (VistaCam iX proof and DIAGNODent pen) for the detection of occlusal carious lesions in teeth recovered from archaeological context. *American Journal of Physical Anthropology* 154 (4):525-34.
- TSUDA, H. ET J. ARENDS.** 1997. Raman spectroscopy in dental research: a short review of recent studies. *Advances in Dental Research* 11 (4):539-47.
- TUNG, K., H. FUJITA, Y. YAMASHITA ET Y. TAKAGI.** 2006. Effect of turpentine-induced fever during the enamel formation of rat incisor. *Archives of Oral Biology* 51 (6):464-70.
- TURNER-WALKER, GORDON.** 2007. "The Chemical and Microbial Degradation of Bones and Teeth." In *Advances in Human Palaeopathology*, édité par R. Pinhasi and S. Mays, p. 11-15. : John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. .
- VAN AMERONGEN, W. E. ET C. M. KREULEN.** 1995. Cheese molars: a pilot study of the etiology of hypocalcifications in first permanent molars. *ASDC Journal of Dentistry for Children* 62 (4):266-9.
- VIEIRA, A. R. ET E. KUP.** 2016. On the Etiology of Molar-Incisor Hypomineralization. *Caries Research* 50 (2):166-9.
- VODANOVIC, M., H. BRKIC, M. SLAUS ET Z. DEMO.** 2005. The frequency and distribution of caries in the mediaeval population of Bijelo Brdo in Croatia (10th-11th century). *Archives of Oral Biology* 50 (7):669-80.
- VOGEL, S. A.** 2009. The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a "safety". *American Journal of Public Health* 99 Suppl 3:S559-66.
- WALSH, JOSEPH A.** 2008. Evolution & the cesarean section rate. *The American Biology Teacher* 70 (7):401-404.
- WALTER, BRITTANY S., SHARON N. DEWITTE ET REBECCA C. REDFERN.** 2015. Sex differentials in caries frequencies in Medieval London. *Archives of Oral Biology* 63:32-39.
- WATTS, A. ET M. ADDY.** 2001. Tooth discolouration and staining: a review of the literature. *British Dental Journal* 190 (6):309-16.

- WATTS, REBECCA. 2015. The long-term impact of developmental stress. Evidence from later medieval and post-medieval London (AD1117–1853). *American Journal of Physical Anthropology* 158 (4):569-580.
- Weerheijm, K, HJ Groen et V Beentjes. 2000. "Prevalence in 11-year-old Dutch Children of cheese molars." 5th EAPD congress abstracts - Bergen 2000., Sept.
- WEERHEIJM, K. 2008. Molar-incisor-hypomineralisation: site specific or world wide problem? *European Archives of Paediatric Dentistry* 9 (4):165.
- WEERHEIJM, K. 2015. The European Academy of Paediatric Dentistry and Molar Incisor Hypomineralisation. *European Archives of Paediatric Dentistry* 16 (3):233-4.
- WEERHEIJM, K. L. 2004. Molar incisor hypomineralization (MIH): clinical presentation, aetiology and management. *Dental Update* 31 (1):9-12.
- WEERHEIJM, K. L., M. DUGGAL, I. MEJÀRE, L. PAPAGIANNOULIS, G. KOCH, L. C. MARTENS ET A. L. HALLONSTEN. 2003. Judgement criteria for molar incisor hypomineralisation (MIH) in epidemiologic studies: a summary of the European meeting on MIH held in Athens, 2003. *European Journal of Paediatric Dentistry* 4 (3):110-3.
- WEERHEIJM, K. L., B. JALEVIK ET S. ALALUUSUA. 2001. Molar-incisor hypomineralisation. *Caries Research* 35 (5):390-1.
- WEERHEIJM, K. L. ET I. MEJARE. 2003. Molar incisor hypomineralization: a questionnaire inventory of its occurrence in member countries of the European Academy of Paediatric Dentistry (EAPD). *International Journal of Paediatric Dentistry* 13 (6):411-6.
- WELCH, M. 1992. "Anglo Saxon England." In, édité par London: Batsford/English Heritage.
- WHATLING, R. ET J. M. FEARNE. 2008. Molar incisor hypomineralization: a study of aetiological factors in a group of UK children. *International Journal of Paediatric Dentistry* 18 (3):155-62.
- WILLIAM, V., M. F. BURROW, J. E. PALAMARA ET L. B. MESSER. 2006a. Microshear bond strength of resin composite to teeth affected by molar hypomineralization using 2 adhesive systems. *Pediatric Dentistry* 28 (3):233-41.
- WILLIAM, V., L. B. MESSER ET M. F. BURROW. 2006b. Molar incisor hypomineralization: review and recommendations for clinical management. *Pediatric Dentistry* 28 (3):224-32.
- WILSON, P. R. ET A. D. BEYNON. 1989. Mineralization differences between human deciduous and permanent enamel measured by quantitative microradiography. *Archives of Oral Biology* 34 (2):85-8.
- WOGELIUS, P., D. HAUBEK, A. NECHIFOR, M. NORGAARD, T. TVEDEBRINK ET S. POULSEN. 2010. Association between use of asthma drugs and prevalence of demarcated opacities in permanent first molars in 6-to-8-year-old Danish children. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 38 (2):145-51.
- WOLF, G. 2004. The discovery of vitamin D: the contribution of Adolf Windaus. *The Journal of Nutrition* 134 (6):1299-302.
- WOOD, JAMES W., DARRYL J. HOLMAN, KATHLEEN A. O'CONNOR ET REBECCA J. FERRELL. 2002. "Mortality models for paleodemography." In *Paleodemography: Age Distributions from Skeletal Samples*, édité par James W. Vaupel and Robert D. Hoppa, 129-168. Cambridge: Cambridge University Press.
- WRIGHT, J. T., M. S. DUGGAL, C. ROBINSON, J. KIRKHAM ET R. SHORE. 1993. The mineral composition and enamel ultrastructure of hypocalcified amelogenesis imperfecta. *Journal of Craniofacial Genetics and Developmental Biology* 13 (2):117-26.
- WUOLLET, E., S. LAISI, E. SALMELA, A. ESS ET S. ALALUUSUA. 2014. Background factors of molar-incisor hypomineralization in a group of Finnish children. *Acta Odontologica Scandinavica* 72 (8):963-9.
- ZAIDEL'MAN, F. R., A. S. NIKIFOROVA, L. V. STEPANTSOVA, S. B. SAFRONOV ET V. N. KRASIN. 2009. Manganese, iron, and phosphorus in nodules of chernozem-like soils on

- the northern Tambov Plain and their importance for the diagnostics of gley intensity. *Eurasian Soil Science* 42 (5):477-487.
- ZAWAIDEH, F. I., S. H. AL-JUNDI ET M. H. AL-JALJOLI.** 2011. Molar incisor hypomineralisation: prevalence in Jordanian children and clinical characteristics. *European Archives of Paediatric Dentistry* 12 (1):31-6.
- ZIMMERMAN, H. A., J. J. SCHULTZ ET M. E. SIGMAN.** 2015. Preliminary validation of handheld X-ray fluorescence spectrometry: distinguishing osseous and dental tissue from nonbone material of similar chemical composition. *Journal of Forensic Sciences* 60 (2):382-90.
- ZIMMERMANN, E. R.** 1954. Fluoride and nonfluoride enamel opacities. *Public Health Reports* 69 (11):1115-20.



# Annexes

Annexe 1. Liste non exhaustive des hypothèses étiologiques des HMI citées dans les articles parus après 2001. Recherche sur PubMed avec la phrase : « etiology AND MIH ».

Hypothèses	Références
accouchement compliqué	(Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013, Garot <i>et al.</i> 2016a)
accouchement prolongé	(Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
alcoolisme maternelle	(Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
allergies	(Whatling et Fearne 2008)
antibiotiques (amoxicilline, érythromycine, céphalosporine)	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007, Laisi <i>et al.</i> 2008, Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Souza <i>et al.</i> 2012, Kuscu <i>et al.</i> 2013, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
bisphénols	(Jedeon <i>et al.</i> 2013)
coqueluche	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007)
déficit en vitamine D	(Ogden <i>et al.</i> 2008)
diabète maternelle	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Souza <i>et al.</i> 2012, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
durée allaitement prolongés (dioxine)	(Ghanim <i>et al.</i> 2013, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a, Wuollet <i>et al.</i> 2014)
fièvre	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007, Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
gémellité	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b)
HIV	(Andrade <i>et al.</i> 2017)
hypertension maternelle	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013)
infections O.R.L	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
infections urinaires	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013)
insuffisance rénale	(Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013)
lieu de résidence (dioxine)	(Souza <i>et al.</i> 2012, Wuollet <i>et al.</i> 2014)
maladies gastro-œsophagienne	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007, Lygidakis <i>et al.</i> 2008b)
maladies respiratoires	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007, Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i>

	2013, Kuhnisch <i>et al.</i> 2014a, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
malnutrition	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b)
médicaments pendant la grossesse	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b)
mode d'accouchement	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Souza <i>et al.</i> 2012, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a, Garot <i>et al.</i> 2016a)
niveaux d'éducation	(Wuollet <i>et al.</i> 2014)
paramètres socio-économiques	(Wuollet <i>et al.</i> 2014)
poids de naissance	(Whatling et Fearne 2008, Ghanim <i>et al.</i> 2013, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
prédisposition génétique	(Jeremias <i>et al.</i> 2013, Kuhnisch <i>et al.</i> 2014b, Jeremias <i>et al.</i> 2016, Vieira et Kup 2016)
prématurité	(Whatling et Fearne 2008, Brogardh-Roth 2010, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
prise de drogues par la mère	(Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
tabagisme maternelle	(Souza <i>et al.</i> 2012, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a, Wuollet <i>et al.</i> 2014)
thérapie aérosol	(Loli <i>et al.</i> 2015)
varicelle	(Muratbegovic <i>et al.</i> 2007, Lygidakis <i>et al.</i> 2008b, Whatling et Fearne 2008, Pitiphat <i>et al.</i> 2014a)
vomissement les derniers mois de grossesse	(Lygidakis <i>et al.</i> 2008b)

**Annexe 2. Formulaire (DC-2015-2415) relatif au recueil des dents adressé au ministère de la recherche et au Comité de Protection des Personnes du Sud-ouest et d'Outre-Mer III.**

**ANNEXE 1**

**DOSSIER DE DECLARATION** DES ORGANISMES ASSURANT POUR LES BESOINS DE LEURS PROPRES PROGRAMMES DE RECHERCHE LA CONSERVATION ET LA PREPARATION DE TISSUS ET DE CELLULES ISSUS DU CORPS HUMAIN ET DE LEURS DERIVES, DES ORGANES, DU SANG, DE SES COMPOSANTS OU DE SES PRODUITS DERIVES, Y COMPRIS LA CONSTITUTION ET L'UTILISATION DE COLLECTIONS D'ECHANTILLONS BIOLOGIQUES HUMAINS (ARTICLES L. 1243-3 ET R. 1243-49 ET SUIVANTS DU CODE DE LA SANTE PUBLIQUE)

Le dossier est à adresser par lettre recommandée avec demande d'avis de réception ou à déposer contre récépissé, accompagné d'un courrier **signé par le représentant légal de l'organisme**, dans les conditions suivantes :

- 3 exemplaires au ministre chargé de la recherche, direction générale de la recherche et de l'innovation, Cellule bioéthique, 1 rue Descartes, 75231 Paris cedex 05,

- et, lorsque l'organisme est un établissement de santé, 3 exemplaires au directeur de l'agence régionale de santé territorialement compétente ou, s'il s'agit d'un hôpital des armées, au ministre de la défense.

Lorsque plusieurs sites géographiquement distincts sont concernés, les parties II et III sont à compléter pour chacun des sites.

Cadre réservé à l'administration Date de réception de la déclaration : .....	N ° DC-2015-2415	Date .....
Modification de la déclaration    oui    non Seules les rubriques modifiées par rapport à la demande initiale doivent être renseignées	N° de la déclaration initiale: .....	Date .....
Cadre réservé à l'administration Date de réception de la modification : .....	N° .....	Date .....

**PARTIE I : RENSEIGNEMENTS ADMINISTRATIFS RELATIFS A L'ENTITE JURIDIQUE  
PRESENTANT LA DECLARATION**

**1. Statut juridique** (cocher la ou les cases correspondantes):

- Etablissement de santé
- Etablissement public de santé
  - Etablissement privé de santé participant au service public hospitalier
  - Etablissement privé de santé

n° FINESS :

**Agence régionale de l'hospitalisation de rattachement :**

- Hôpital des armées

- Etablissement public à caractère scientifique et technologique
- Etablissement public d'enseignement supérieur
- Autre établissement public
- Fondation reconnue d'utilité publique
- Groupement d'intérêt public
- Société commerciale

n° K bis :

- Association

n° APE :

- Autres (préciser):

**2. Nom et adresse de l'organisme :**

**Nom :** Université de Bordeaux hébergeant le laboratoire PACEA (UMR 5199)

**Adresse :** 35 place Pey Berland - 33000 Bordeaux

**Téléphone :** 05 40 00 60 00

**Télécopie :** .. .. .

**Adresse électronique :** sandra.chanvriil@u-bordeaux.fr

**Nom du représentant légal :** Tunon de Lara Manuel

**Titre et fonctions :** Président de l' Université de Bordeaux

**3. Sites concernés par la demande (cocher la case correspondante) :**

- La déclaration concerne un seul site : le cas échéant, préciser sa localisation géographique si elle est différente de celle de l'entité juridique.
- La déclaration concerne plusieurs sites : préciser les coordonnées des sites concernés et compléter, pour chaque site, les parties II et III.

**4. Coordonnées du responsable scientifique ou du responsable scientifique coordonnateur des activités déclarées :**

**Nom :** GAROT ELSA

**Titre et fonctions :** A.H.U. (Université de bordeaux, CHU de Bordeaux)

**Adresse :** 16-20 cours de la Marne 33082 Bordeaux

**Téléphone :** 06 11 73 08 86

**Télécopie :** 05 57 57 30 10

**Adresse électronique :** elsa.garot@u-bordeaux.fr

**5. Comité de protection des personnes saisi :**

(comité territorialement compétent pour le lieu où le responsable scientifique ou, le cas échéant, le responsable scientifique coordonnateur exerce ses fonctions) : Sud-Ouest et Outre-mer III

**PARTIE II : DOSSIER TECHNIQUE**

Nom du site : C.H.U. Bordeaux

**1. Activité(s) faisant l'objet de la déclaration :**

(Cocher la ou les cases correspondantes)

- Préparation
- Conservation
- Utilisation
- Constitution de collections d'échantillons biologiques (\*)

(\*) Article L. 1243-3 du code de la santé publique : « les termes "collections d'échantillons biologiques humains" désignent la réunion, à des fins scientifiques, de prélèvements biologiques effectués sur un groupe de personnes identifiées et sélectionnées en fonction des caractéristiques cliniques ou biologiques d'un ou plusieurs membres du groupe, ainsi que des dérivés de ces prélèvements. »

**2. Pour la déclaration d'activités existantes, date de démarrage de l'activité :**

15/03/2015

**3. Locaux :****a) Adresse :** Bâtiment B8 Allée Geoffroy Saint Hilaire CS 50023 - 33615 PESSAC CEDEX**b) Surface dédiée aux activités déclarées :** 1 m<sup>2</sup>**c) Procédure de nettoyage et décontamination des locaux et des équipements (préciser) :**

Les phanères (dents) seront stockés dans des pots à prélèvement vissés contenant de l'hypochlorite de sodium stockés dans une caisse fermée dont seul le responsable de la collection aura la possibilité de l'ouvrir. Les locaux seront nettoyés et décontaminés par le service de nettoyage de l'université de Bordeaux.

**d) Systèmes et circuits d'élimination des déchets :** DASRI (au sein du CHU de Bordeaux)/ contenant rigide étanche et collecte des DASRI**4. Equipements techniques utilisés pour les activités faisant l'objet de la déclaration :****a) Description des équipements et matériels dédiés aux activités :** de préparation (préciser) : pots à prélèvement et hypochlorite de sodium (15/03/2015) de conservation (préciser) : pots à prélèvement et hypochlorite de sodium (15/03/2015) d'utilisation (préciser) : élimination de l'hypochlorite de sodium dans des conteneurs à DASRI au sein du CHU.**b) Existence d'un système de contrôle de la qualité :**  Oui (préciser)  Non (préciser)

contrôle qualité du CHU de Bordeaux (soins dentaires)

c) **Existence de dispositifs de sécurité pour la conservation** :  Oui (préciser)  Non (préciser)

Récipients étanches (pot à prélèvement). La dizaine de pots sera stockés dans une caisse fermée avec un cadenas dont seul le responsable de la collection aura la possibilité de l'ouvrir.

#### 5. Personnel :

a) **Nom de la personne responsable de la protection du personnel sur le site** : Catherine Esquer  
(Médecine du travail du personnel hospitalier du CHU)

b) **Procédure de protection des personnels amenés à manipuler les échantillons (préciser la nature du risque et les mesures prises)** : risques faibles

dents extraites dans le cadre de soin (phanères) en milieu hospitalier

gant stérile/masque/lunette

en cas d'accident d'exposition au sang au cours du soin, protocole des AES dans le cadre hospitalier.

#### 6. Gestion des activités :

a) **Description des moyens utilisés pour la gestion des échantillons ou des collections et des données associées** :

Support informatique

Autre moyen (préciser) :

b) **Situation au regard de la législation sur le traitement de données à caractère personnel** :

Procédure auprès de la CNIL (préciser) :

**S'il a été désigné, nom du correspondant à la protection des données à caractère personnel** :

#### 7. Existence d'autres activités sur le même site :

**L'organisme effectuant la déclaration exerce-t-il sur le même site des activités de conservation ou de préparation à des fins thérapeutiques de tissus et cellules issus du corps humain, d'organes, du sang, de ses composants ou produits dérivés ?**

Oui  Non

**Dans l'affirmative, des procédures ont-elles été mises en place afin d'assurer une séparation des activités permettant d'éviter les risques de contamination et d'assurer la sécurité des produits ?**

Oui (préciser)  Non (préciser)

#### 8. Relations avec d'autres organismes, sous-traitance :

**a) Pour effectuer les activités déclarées, y a-t-il mise à disposition de moyens techniques par un autre organisme ?**

Oui  Non

**Dans l'affirmative, joindre les conventions passées entre l'organisme déclarant et cet organisme ou tout document précisant les modes de collaboration.**

**b) Certaines des activités sont-elles sous-traitées ?**

Oui  Non

**Dans l'affirmative, préciser dans chaque rubrique du présent dossier technique, la part des activités sous-traitées.**

**PARTIE III : RENSEIGNEMENTS SCIENTIFIQUES**

Nom du site : C.H.U. Bordeaux

*En cas de détention de collections, les rubriques 2 à 7 sont à remplir pour chacune des collections.***1. Nombre de collections : 1****Nom de la collection :** Collection 1**2. Nature des échantillons :**

Origine	Organes	Tissus, composants ou produits dérivés (préciser)	Cellules, lignées, composants ou produits dérivés, fluides (préciser)
Cerveau			
Coeur-poumons			
Foie			
Pancréas			
Intestins			
Reins			
Muscles			
Cornées			
Os massifs/fragments osseux			
Tendons, ligaments			
Valves cardiaques			
Vaisseaux, veines, artères			
Vessie			
Peau			
Sang périphérique			
Sang de cordon			
Moëlle osseuse			
Placenta			
Embryons issus d'interruption de grossesse			
Foetus issu d'interruption de grossesse			
Autres (préciser)			
phanères (dent)		phanères (dents)	

(\*) N.B. : Les cellules souches embryonnaires humaines provenant d'embryons conçus in vitro dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation et pour lesquels il n'existe plus de projet parental font l'objet d'une procédure distincte (autorisation de conservation prévue par les articles L. 2151-7 et R. 2151-18 et suivants du code de la santé publique)

### 3. Modalités d'obtention des échantillons :

**(Préciser notamment si leur provenance est interne ou externe à l'organisme ou s'il s'agit d'échantillons importés)** provenance externe à l'organisme, échantillon collecté dans le cadre de soin au sein du CHU de Bordeaux

### 4. Consentement des donneurs :

Recueil du consentement (description de la procédure) :

Vérification de l'absence d'opposition (description de la procédure) : information éclairée du patient et possibilité du patient de s'opposer à cette collection.

Echantillons anonymisés de façon irréversible (préciser) : Code: MIH (pathologie étudiée) et ordre de la collecte 1,2,3 etc...  
première dent collectée = MIH1

### 5. Existence de données associées :

- Cliniques
- Anatomopathologiques
- Biologiques

### 6. Programme(s) de recherche :

**Description succincte (4 000 caractères maximum) :** Toutes les données seront anonymisées de façon irréversible. Nous travaillons sur une anomalie qualitative de l'email dentaire qui induit des tâches sur les dents appelée Molar Incisor Hypomineralization (MIH). Nous souhaitons collecter des dents présentant cette anomalie et qui sont extraites dans le cadre de soins pour des raisons autres (carie, traitement orthodontique, maladies parodontales etc...). Par la suite nous voulons étudier la microstructure de ces défauts de l'email. Ces dents seraient collectées au sein du C.H.U (service d'Odontologie) de Bordeaux. Les patients auront connaissance du devenir et de l'utilisation des données issues de ces dents et pourront s'opposer à ce prélèvement. Si un patient s'oppose à ce recueillement, la dent suivra le chemin habituel des DASRI au sein du CHU (collecte dans conteneur étanche rigide et destruction).

*Si l'activité déclarée n'inclut pas la constitution ou l'utilisation de collections d'échantillons biologiques et porte uniquement sur des échantillons anonymisés de façon irréversible, l'organisme peut indiquer seulement la thématique générale de recherche.*

**7. Devenir envisagé des échantillons ou de la collection à la fin des travaux de recherche :**

- Conservation sur site
- Transfert à une autre équipe de recherche appartenant au même organisme
- Transfert à un autre organisme pour les programmes de recherche de cet organisme
- Destruction

Date, nom et signature du représentant légal de l'organisme demandeur



Manuel TUNON DE LARA

le 20/05/2015

Date, nom et signature du responsable scientifique ou du responsable scientifique coordonnateur des activités

**Annexe 3. Réponses du ministère de la recherche et du Comité de Protection des Personnes du Sud-ouest et d'Outre-Mer III relatives au formulaire (DC-2015-2415). Les dents sont considérées comme des phanères et leur collecte ne requiert pas de déclaration préalable.**



MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE,  
DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

Paris le 16 JUIN 2015

Direction générale de  
la recherche et de  
l'innovation

Cellule bioéthique

Affaire suivie par  
E. Echard/S. Kerboriou  
Téléphone  
01 55 55 86 68  
Mél.  
Gestion.conservation  
@recherche.gouv.fr

1 rue Descartes  
75231 Paris cedex 05

Le ministère de l'éducation nationale, de  
l'enseignement supérieur et de la recherche

à

Monsieur le Président  
Université de Bordeaux  
35 place Pey Berland  
33000 Bordeaux

**Objet :** Dossier de déclaration de conservation et préparation à des fins scientifiques  
d'éléments du corps humain (responsable scientifique : Elsa GAROT)

Vous avez adressé à nos services un dossier de déclaration de conservation et de  
préparation d'éléments du corps humain pour les besoins des programmes de  
recherche de votre organisme enregistré sous le n° **DC-2015-2415**.

Toutefois, votre dossier ne peut être pris en compte dans le cadre de la procédure de  
déclaration prévue à l'article L. 1243-3 du code de la santé publique.

En effet, les dents ne sont pas soumises à l'ensemble des dispositions du livre  
deuxième, première partie du même code (article L. 1211-8).

Sauf observation contraire de votre part transmise par courrier avant le 05/07/2015, la  
présente déclaration est considérée abandonnée.

  
Estelle ECHARD  
Responsable cellule bioéthique

Copie : CPP Sud-Ouest et Outre-Mer III

**De:** "Nathalie Guiton" <nathalie.guiton@u-bordeaux.fr>  
**À:** "Elsa Garot" <elsa.garot@u-bordeaux.fr>  
**Cc:** "SYLVIE KERBORIOU" <sylvie.kerboriou@recherche.gouv.fr>  
**Envoyé:** Mardi 16 Juin 2015 12:02:17  
**Objet:** Re: Envoi DC-2015-2415 (université de Bordeaux) au CPP SOOM3

Chère Madame  
Oui : j'accuse réception du document sur le site du Ministère.  
Bien cordialement

Nathalie GUITON  
Secrétariat du CPP Sud Ouest et Outre Mer III  
Bat 1A - Service Pharmacologie Clinique  
Hopital Pellegrin  
33076 BORDEAUX CX  
Tel/Fax 05 57 81 76 07 - Port 06 80 72 01 13  
Email : cpp.soom3@u-bordeaux.fr  
<http://www.cpp-soom3.u-bordeaux.fr>

---

**Annexe 4. Protocole adressé aux stomatologues et chirurgiens maxillo-faciaux de la Gironde.**

Elsa Garot  
Etudiante en Anthropologie biologique  
Chirurgien-Dentiste  
Tél : 06.11.73.08.86  
elsa.garot@u-bordeaux.fr

PROTOCOLE

Dans le cadre d'une étude sur les Hypominéralisations des Molaires et des Incisives (HMI), nous souhaitons réaliser des micro-analyses sur des premières molaires permanentes (PMP). En raison d'un délabrement important, les extractions de ces molaires sont souvent recommandées lors d'un traitement orthodontique. Dans le cadre de ma thèse, il est nécessaire que je récolte un grand nombre de PMP de patients âgés de 6 à 18 ans c'est pourquoi je vous sollicite. Une déclaration de collection d'échantillons biologiques a été déposée auprès du Comité de Protection des Personnes Sud-Ouest et Outre-Mer III le 15/05/2014.

Si vous souhaitez m'aider dans la collecte de ces dents, voici la démarche à suivre :

**Extractions des premières molaires permanentes (saines et pathologiques) chez des patients de moins de 18 ans:**

1) Conserver les premières molaires permanentes y compris les éventuels fragments dans du sérum physiologique ou de l'eau déminéralisée.

2) Me contacter par e-mail ou téléphone pour que je les récupère

elsa.garot@u-bordeaux.fr

Tél : 06.11.73.08.86

Je vous remercie par avance et reste à votre entière disposition pour de plus amples informations.

Elsa Garot

**Annexe 5. Script élaboré par Frédéric Santos (Ingénieur d'étude en statistiques, CNRS, PACEA UMR5199) et utilisé avec le logiciel statistique R<sup>®</sup> (Team 2013).**

```
# Importation des données :
sain <- read.csv2("diff_saine.csv", header=FALSE, sep=";", dec=",")
mala <- read.csv2("diff_malade.csv", header=FALSE, sep=";", dec=",")
summary(sain)
summary(mala)

# Dim :
Nsain <- nrow(sain) ; Nsain
Nmala <- nrow(mala) ; Nmala

# Déciles :
Qsain <- quantile(1:Nsain, seq(0.1, 1, by=0.1), type=3) # quantiles de type SAS
Qmala <- quantile(1:Nmala, seq(0.1, 1, by=0.1), type=3)

# Tableaux réduits :
Rsain <- sain[Qsain, ]
Rmala <- mala[Qmala, ]
Diff <- Rsain[,2] - Rmala[,2]

# Résultat :
Res <- cbind(Rsain, Rmala, Diff=Diff)
colnames(Res) <- c("x sain", "y sain", "x malade", "y malade", "Diff")
write.csv2(Res, "resultat.csv", row.names=FALSE)
```

Annexe 6. Google formulaire (première série) présentant les 12 cas archéologiques et envoyé à différents examinateurs experts en HMI.

Case 1



1. Q1. Is this case typical of MIH? \*

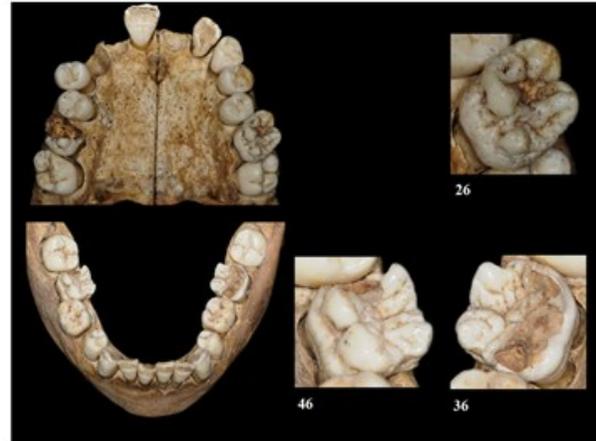
Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

2. Q2. How did you make your decision? \*

---

Case 2



3. Q2. Is this case typical of MIH? \*

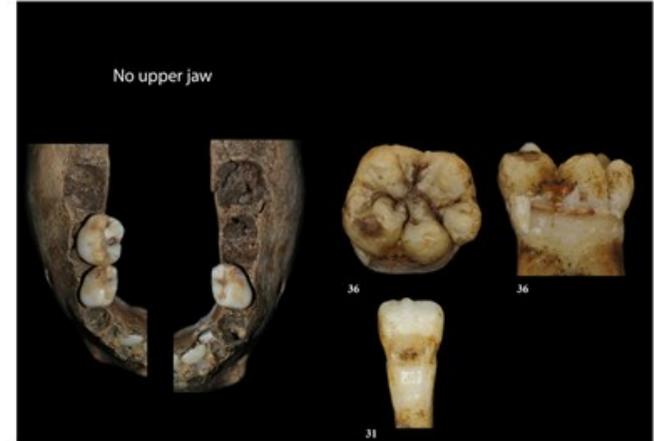
Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

4. Q2. How did you make your decision? \*

---

Case 3



5. Q3. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

6. Q3. How did you make your decision? \*

Case 4



7. Q4. Is this case typical of MIH? \*

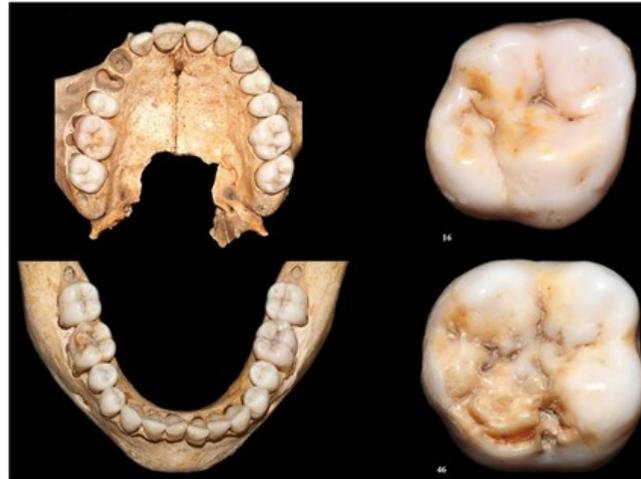
Check all that apply.

- Yes  
 No  
 Unsure

8. Q4. How did you make your decision? \*

---

Case 5



9. Q5. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes  
 No  
 Unsure

10. Q5. How did you make your decision? \*

---

Case 6



11. Q6. Is this case typical of MIH? \*

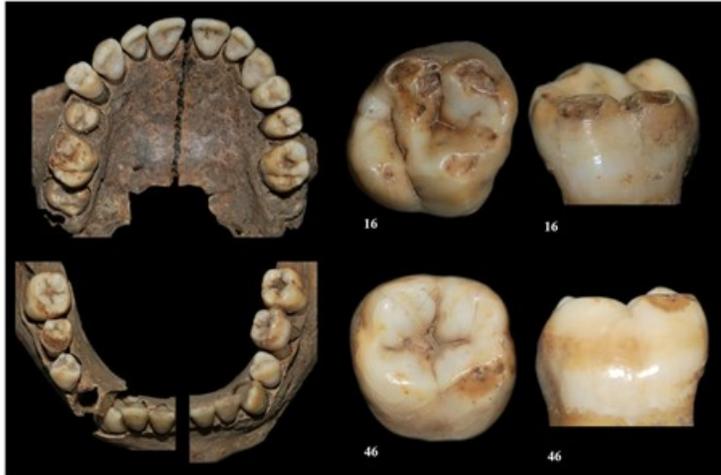
Check all that apply.

- Yes  
 No  
 Unsure

12. Q6. How did you make your decision? \*

---

Case 7



13. Q7. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

14. Q7. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

Case 8



15. Q8. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

16. Q8. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

Case 9



17. Q9. Is this case typical of MIH? \*

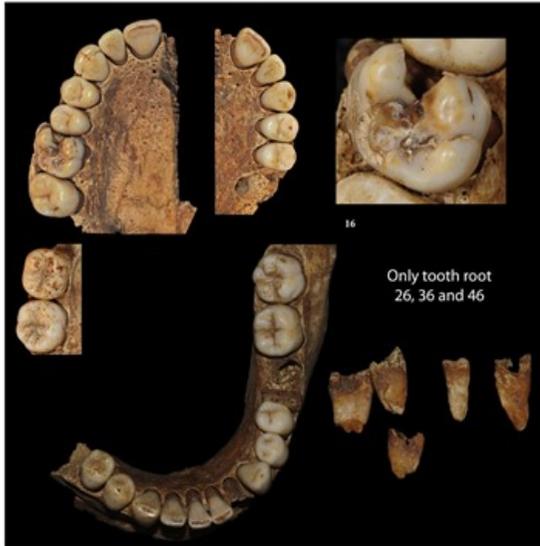
Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

18. Q9. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

Case 10



19. Q10. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

20. Q10. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

Case 11



21. Q11. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

22. Q11. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

Case 12



23. Q12. Is this case typical of MIH? \*

Check all that apply.

- Yes
- No
- Unsure

24. Q12. How did you make your decision? \*

\_\_\_\_\_

25. Many thanks for your time. If participants would like to help us to determine the intraobserver agreement you may include your email address. This repeat questionnaire will be sent to you in 2 weeks. Your email: \*

\_\_\_\_\_

**Annexe 7. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 9 cas issus du vivant. Réponses des trois examinateurs (EG, PR et DM). EG1 : première série de test pour l'examineur EG ; EG2 : deuxième série de test pour l'examineur EG ; 2 : oui ; 1 : je ne sais pas ; 0 : non.**

CAS	EG1	EG2	PR1	PR2	DM1	DM2
1	1	0	1	0	1	2
2	2	2	2	2	0	2
3	0	1	0	1	0	0
4	0	0	0	0	0	0
5	0	2	0	2	0	0
6	2	0	2	2	2	2
7	0	0	0	0	0	0
8	2	2	2	2	2	2
9	2	2	2	2	2	2

**Annexe 8. Données du test inter-observateurs. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 12 cas archéologiques. Les réponses des 19 examinateurs sont extraites du *Google formulaire*. 2 : oui ; 1 : je ne sais pas ; 0 : non.**

Examineur	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8	Cas 9	Cas 10	Cas 11	Cas 12
1	1	1	1	2	2	2	2	0	0	1	2	0
2	2	0	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1
3	2	0	2	2	1	2	2	0	1	2	1	2
4	2	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	1
5	2	0	2	2	2	2	0	0	2	1	0	0
6	1	0	0	2	2	0	2	0	0	1	0	1
7	2	0	1	2	2	2	2	0	0	2	2	2
8	0	2	0	2	2	0	1	1	2	2	2	0
9	0	2	1	1	0	0	1	0	2	0	1	0
10	1	2	0	2	1	1	2	1	1	2	2	0
11	2	0	2	2	2	2	2	0	1	2	2	1
12	0	0	2	2	2	1	0	0	0	2	0	1
13	0	2	1	1	2	0	1	0	2	2	2	0
14	1	2	1	0	1	0	2	1	2	0	0	0
15	0	0	2	2	2	1	2	1	2	2	1	0
16	0	2	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1
17	1	0	0	2	1	2	0	0	0	0	0	0
18	2	0	1	0	1	1	2	0	2	2	1	1
19	0	1	0	2	1	1	0	1	1	0	2	0

**Annexe 9. Données du test intra-observateur. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 12 cas archéologiques. Les réponses des 3 examinateurs sont extraites du *Google formulaire*. 2 : oui ; 1 : je ne sais pas ; 0 : non.**

Examineur	Cas 1	Cas 2	Cas 3	Cas 4	Cas 5	Cas 6	Cas 7	Cas 8	Cas 9	Cas 10	Cas 11	Cas 12
1 (1 <sup>ère</sup> série)	0	2	1	0	0	1	1	0	0	2	0	0
1 (2 <sup>ème</sup> série)	1	2	0	2	1	1	2	1	1	2	2	0
2 (1 <sup>ère</sup> série)	1	0	1	2	2	2	2	0	2	2	1	2
2 (2 <sup>ème</sup> série)	0	2	1	2	2	2	2	1	2	2	1	1
3 (1 <sup>ère</sup> série)	0	2	1	0	0	0	1	0	2	0	0	0
3 (2 <sup>ème</sup> série)	0	2	1	1	0	0	1	0	2	0	1	0

**Annexe 10. Reproductibilité et fiabilité du diagnostic de HMI à partir de 9 cas issus de la série archéologique de Broadgate (*Museum* de Londres). Réponses des trois examinateurs (EG, PR et DM). TEST 1 : première série de test ; TEST 2 : deuxième série de test ; 2 : oui ; 1 : je ne sais pas ; 0 : non ; TPH : taphonomie.**

TEST 1	MIH			TPH		
CASE	EG	PR	DM	EG	PR	DM
1	0	1	0	0	2	2
2	0	0	0	2	2	2
3	0	1	1	2	1	1
4	0	0	0	2	2	2
5	0	0	0	2	0	2
6	0	1	0	2	1	2
7	1	1	1	0	1	3
8	0	0	2	0	2	1
9	0	0	0	2	2	2

TEST 2	MIH			TPH		
CASE	EG	PR	DM	EG	DM	DM
1	0	1	1	0	PR	3
2	0	0	0	2	2	2
3	0	1	2	2	2	0
4	0	0	0	2	2	2
5	0	2	1	2	2	1
6	0	2	1	2	2	1
7	2	0	1	0	2	1
8	0	1	2	0	2	0
9	0	0	0	1	2	2

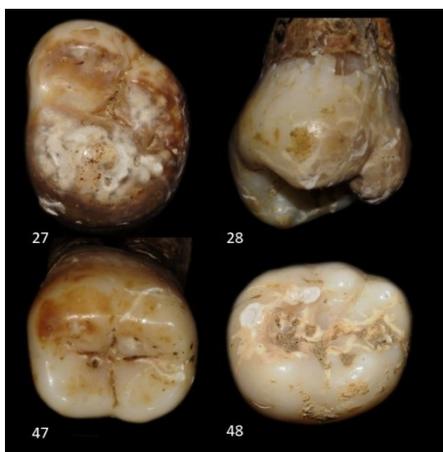
**Annexe 11. Individu SeG\_484 présentant des colorations sur toutes les dents mandibulaires gauches et sur l'os mandibulaire (dent n° 36) et inclus dans l'échantillon « taphonomie ».**



**Annexe 12. Individu JAU\_152 (dents n° 46, 34, 35, 36 et 16) présentant des colorations sur une grande partie des dents mandibulaires gauches et sur l'os mandibulaire, et inclus dans l'échantillon « taphonomie ».**



**Annexe 13. Individu JAU\_2001 (dents n° 27, 47, 28 et 48) présentant des colorations sur toutes les dents mandibulaires gauches et sur l'os mandibulaire, et inclus dans l'échantillon « taphonomie ».**



**Annexe 14. Moyennes des concentrations relatives en Mn, Fe, Cu et Pb des zones colorées (colo) et non colorées (non colo) issues des spécimens archéologiques dont l'origine de la coloration de l'émail est non préalablement déterminée. w% : pourcentage massique.**

Individus	Eléments (w%)			
	Mn	Fe	Cu	Pb
BeA_121_36_colo	0,018	0,031	0,006	0,007
BeA_121_36_non colo	0,016	0,029	0,006	0,005
BeA_121_46_colo	0,024	0,148	0,005	0,017
BeA_121_46_non colo	0,018	0,090	0,005	0,014
BeA_137_46_colo	0,031	0,128	0,008	0,004
BeA_137_46_non colo	0,015	0,102	0,005	0,003
SeG_526_16_colo	0,039	0,314	0,007	0,011
SeG_526_16_non colo	0,016	0,091	0,005	0,008
SeG_526_26_colo	0,052	0,640	0,006	0,019
SeG_526_26_non colo	0,014	0,201	0,006	0,007
BeA_137_16_colo	0,022	0,237	0,004	0,006
BeA_137_16_non colo	0,027	0,040	0,004	0,005
SeG_155_16_colo	0,021	0,053	0,004	0,004
SeG_155_16_non colo	0,015	0,027	0,004	0,004
SeG_155_26_colo	0,012	0,060	0,003	0,004
SeG_155_26_non colo	0,012	0,044	0,006	0,004
SeG_155_36_colo	0,017	0,060	0,005	0,003
SeG_155_36_non colo	0,010	0,032	0,004	0,004
BeA_335_46_colo	0,072	0,189	0,011	0,104
BeA_335_46_non colo	0,030	0,026	0,011	0,048
SeG_627_16_colo	0,159	0,140	0,005	0,004
SeG_627_16_non colo	0,017	0,059	0,006	0,005
SeG_53_26_colo	0,199	0,419	0,005	0,004
SeG_53_26_non colo	0,015	0,068	0,004	0,004
SeG_555_46_colo	0,347	0,804	0,008	0,007
SeG_555_46_non colo	0,015	0,046	0,005	0,004
SeG_555_36_colo	0,098	0,378	0,004	0,018
SeG_555_36_noncolo	0,057	0,126	0,004	0,009
SeG_555_16_colo	0,029	0,261	0,006	0,012
SeG_555_16_non colo	0,015	0,140	0,004	0,010
SeG_385_36_colo	0,016	0,192	0,005	0,007
SeG_385_36_non colo	0,016	0,074	0,005	0,004
SeG_385_46_colo	0,015	0,236	0,007	0,003
SeG_385_46_non colo	0,013	0,036	0,004	0,003
SeG_294_16_colo	0,012	0,178	0,005	0,004
SeG_294_16_non colo	0,012	0,092	0,006	0,004
SeG_294_26_colo	0,020	0,239	0,006	0,018
SeG_294_26_non colo	0,020	0,039	0,005	0,025
SeG_191_16_colo	0,017	0,056	0,007	0,013
SeG_191_16_non colo	0,020	0,062	0,005	0,006
SeG_191_36_colo	0,315	0,115	0,004	0,004
SeG_191_36_non colo	0,029	0,063	0,006	0,005
SeG_971_46_colo	0,393	0,422	0,005	0,004
SeG_971_46_non colo	0,026	0,066	0,005	0,004
SeG_228_46_colo	0,687	1,052	0,009	0,007

SeG_228_46_non colo	0,027	0,050	0,005	0,004
SeG_1177_36_colo	0,178	0,353	0,004	0,018
SeG_1177_36_non colo	0,105	0,102	0,004	0,009
SeG_547_36_colo	0,046	0,294	0,006	0,012
SeG_547_36_non colo	0,021	0,137	0,004	0,010
SeG_1217_16_colo	0,025	0,197	0,005	0,007
SeG_1217_16_non colo	0,028	0,059	0,004	0,004
SeG_1217_26_colo	0,028	0,223	0,006	0,003
SeG_1217_26_non colo	0,024	0,030	0,004	0,003
SeG_1217_36_colo	0,020	0,168	0,005	0,004
SeG_1217_36_non colo	0,020	0,104	0,007	0,004
SeG_577_16_colo	0,022	0,259	0,006	0,018
SeG_577_16_non colo	0,015	0,040	0,005	0,025
SeG_42_26_colo	0,021	0,049	0,006	0,013
SeG_42_26_non colo	0,033	0,073	0,005	0,006
BeA_335_16_colo	0,048	0,051	0,024	0,100
BeA_335_16_non colo	0,090	0,025	0,016	0,101
SeG_985_46_colo	0,060	0,077	0,003	0,018
SeG_985_46_non colo	0,024	0,051	0,004	0,008
SeG_323_11_colo	0,055	0,045	0,006	0,012
SeG_323_11_non colo	0,051	0,052	0,007	0,015
SeG_323_26_colo	0,034	0,018	0,007	0,044
SeG_323_26_non colo	0,024	0,013	0,005	0,009
SeG_323_55_colo	0,771	0,093	0,008	0,155
SeG_323_55_non colo	0,071	0,012	0,011	0,032
SeG_323_65_colo	0,567	0,234	0,020	0,169
SeG_323_65_non colo	0,047	0,056	0,004	0,038
SeG_407_26_colo	0,063	0,092	0,004	0,005
SeG_407_26_non colo	0,023	0,049	0,004	0,008
SeG_323_75_colo	0,384	0,762	0,007	0,041
SeG_323_75_non colo	0,062	0,038	0,005	0,013
SeG_323_85_colo	0,134	0,147	0,005	0,029
SeG_323_85_non colo	0,023	0,052	0,004	0,038
CO_518_47_colo	0,032	0,166	0,005	0,008
CO_518_47_non colo	0,027	0,130	0,005	0,006
SeG_1261_36_colo	1,085	0,437	0,023	0,010
SeG_1261_36_non colo	0,129	0,092	0,008	0,019
SeG_300_46_colo	0,026	0,087	0,005	0,004
SeG_300_46_non colo	0,024	0,077	0,005	0,004
SeG_300_26_colo	0,040	0,051	0,004	0,003
SeG_300_26_non colo	0,038	0,123	0,004	0,003
CO_531_46_colo	0,056	0,885	0,009	0,081
CO_531_46_non colo	0,029	0,058	0,004	0,030



## **Distinction entre processus pathologique de type hypominéralisation molaire-incisive et processus taphonomique par différentes méthodes de micro-analyse de l'émail dentaire**

Les diagnostics d'hypominéralisations molaire-incisive (HMI) et de colorations *post-mortem* de l'émail sont peu fiables et reproductibles dans des séries archéologiques. Notre guide de diagnostic a permis de distinguer les hypominéralisations de l'émail des colorations taphonomiques. L'émail hypominéralisé est caractérisé par des taux de  $\beta$ -carbonate plus élevés et une densité minérale plus faible. Les colorations taphonomiques présentent une concentration plus élevée en manganèse, en fer, en cuivre et en plomb, mises en évidence par des analyses en fluorescence X. Les dentures d'individus immatures issus de 21 séries archéologiques ont été examinées et comprenaient : **4 séries françaises**, Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais), Cognac-Saint-Martin (Charente), Beauvais (Oise) et Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde) provenant de cimetières médiévaux et post-médiévaux et **17 séries anglaises** (Londres) provenant de cimetières romains, médiévaux et post-médiévaux. Nous avons dénombré 555 individus dont l'âge au décès est compris entre 5 et 19 ans et dont la datation chronologique s'étale sur une période allant du **1<sup>er</sup> au 19<sup>ème</sup> siècle**. Au total, sur les 290 individus avec au moins une première molaire permanente (PMP) présente, 42 avaient au moins une opacité délimitée de l'émail sur une PMP (soit 14,5%). Parmi les 17 individus dont les dents ont été analysées, les tests statistiques n'ont mis en évidence que 9 cas de HMI, soit 52,9% de l'effectif. Une prévalence de 9,3% de HMI a été estimée dans nos séries archéologiques ce qui avoisine les prévalences connues à l'heure actuelle dans les populations du vivant en Europe. Les défauts du développement de l'émail sont souvent utilisés comme indicateurs de la santé générale dans les populations archéologiques passées. La possibilité de trouver des HMI dans des populations anciennes minimise l'importance de certaines hypothèses étiologiques contemporaines (par exemple les dérivés de dioxines, les bisphénols ou les antibiotiques) sans exclure l'aspect multifactoriel possible de l'anomalie.

Mots clés : hypominéralisation, émail, MIH, population du passé, coloration taphonomique, état sanitaire

---

## **Distinction between demarcated hypomineralised lesions of enamel and taphonomic staining by means of enamel microanalyses**

Developmental enamel defects are often used as indicators of general health in past archaeological populations. It can be difficult to macroscopically distinguish subtle hypomineralised enamel opacities such as Molar Incisor Hypomineralisation (MIH) from *post-mortem* staining. The diagnostic guide developed enables the differentiation of developmental hypomineralisation of enamel from taphonomic discolorations. Hypomineralised enamel had higher  $\beta$ -carbonate rates and lower mineral density. Taphonomic discoloration had higher concentration of manganese, iron, copper and lead, determined by means of X-ray fluorescence analyses. Sub adults from 21 archaeological series were examined and included: **4 French series**, Sains-en-Gohelle (Pas-de-Calais), Cognac-Saint-Martin (Charente), Beauvais (Oise) and Jau-Dignac-et-Loirac (Gironde) from medieval and post-medieval cemeteries and **17 English series** (London) from Roman, medieval and post-medieval cemeteries. We recorded 555 individuals aged between 5-19 years dating from **1<sup>st</sup> to 19<sup>th</sup> century**. Among 290 specimens with at least one first permanent molar (FPM) present, 42 showed at least one FPM opacity (14.5%). Among the 17 individuals whose teeth were analysed, statistics highlighted 9 cases of MIH (52.9%). MIH prevalence of 9.3% was estimated among the archaeological series which is close to prevalence in living populations in Europe. The identification of MIH among past populations downplays contemporary aetiological hypotheses (e.g. dioxins, bisphenols, antibiotics) without excluding multifactorial aetiology of this pathology.

Key words: enamel, hypomineralisation, MIH, past populations, taphonomic discoloration, health status