

UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER

FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

ANNEE 2021

2021 TOU3 3074

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Olympe MAZIERES

le 13 décembre 2021

**PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE : COMMENT LA
PULPE DE NOS DENTS PEUT NOUS RENSEIGNER SUR LES
EPIDEMIES DU PASSE ?**

Directeur de thèse : Pr Michel SIXOU

JURY

Président :	Pr Michel SIXOU
1er assesseur :	Dr Delphine MARET-COMTESSE
2ème assesseur :	Dr Rémi ESCLASSAN
3ème assesseur :	Dr Paul PAGES
Membre invité :	Dr Cédric BOURGEOIS



UNIVERSITE TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTE DE CHIRURGIE DENTAIRE

ANNEE 2021

2021 TOU3 3074

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement

par

Olympe MAZIERES

le 13 décembre 2021

**PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE : COMMENT LA
PULPE DE NOS DENTS PEUT NOUS RENSEIGNER SUR LES
EPIDEMIES DU PASSE ?**

Directeur de thèse : Pr Michel SIXOU

JURY

Président :	Pr Michel SIXOU
1er assesseur :	Dr Delphine MARET-COMTESSE
2ème assesseur :	Dr Rémi ESCLASSAN
3ème assesseur :	Dr Paul PAGES
Membre invité :	Dr Cédric BOURGEOIS





Faculté de Chirurgie Dentaire

➔ DIRECTION

DOYEN

M. Philippe POMAR

ASSESEUR DU DOYEN

Mme Sabine JONJOT
Mme Sara DALICIEUX-LAURENCIN

DIRECTRICE ADMINISTRATIVE

Mme Muriel VERDAGUER

PRÉSIDENTE DU COMITÉ SCIENTIFIQUE

Mme Cathy NABET

➔ HONORARIAT

DOYENS HONORAIRES

M. Jean LAGARRIGUE †
M. Jean-Philippe LODTER †
M. Gérard PALOUDIER
M. Michel SIXOU
M. Henri SOULET

CHARGÉS DE MISSION

M. Karim NASR (*Innovation Pédagogique*)
M. Olivier HAMEL (*Maillage Territorial*)
M. Franck DIEMER (*Formation Continue*)
M. Philippe KEMOUN (*Stratégie Immobilière*)
M. Paul MONSARRAT (*Intelligence Artificielle*)

➔ PERSONNEL ENSEIGNANT

Section CNU 56 : Développement, Croissance et Prévention

56.01 ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE et ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE (Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER)

ODONTOLOGIE PEDIATRIQUE

Professeurs d'Université : Mme Isabelle BAILLEUL-FORESTIER, M. Frédéric VAYSSE
Maîtres de Conférences : Mme Emmanuelle NOIRRIE-ESCLASSAN, Mme Marie- Cécile VALERA, M. Mathieu MARTY
Assistants : Mme Marion GUY-VERGER, Mme Alice BROUTIN (associée)
Adjoints d'Enseignement : M. Sébastien DOMINE, M. Robin BENETAH, M. Mathieu TESTE,

ORTHOPEDIE DENTO-FACIALE

Maîtres de Conférences : M. Pascal BARON, Mme Christiane LODTER, M. Maxime ROTENBERG
Assistants : Mme Isabelle ARAGON, Mme Anais DIVOL,

56.02 PRÉVENTION, ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉCONOMIE DE LA SANTÉ, ODONTOLOGIE LÉGALE (Mme NABET Catherine)

Professeurs d'Université : M. Michel SIXOU, Mme Catherine NABET, M. Olivier HAMEL, M. Jean-Noël VERGNES
Assistante : Mme Géromine FOURNIER
Adjoints d'Enseignement : M. Alain DURAND, Mlle. Sacha BARON, M. Romain LAGARD, M. Fabien BERLIOZ
M. Jean-Philippe GATIGNOL, Mme Carole KANJ

Section CNU 57 : Chirurgie Orale, Parodontologie, Biologie Orale

57.01 CHIRURGIE ORALE, PARODONTOLOGIE, BIOLOGIE ORALE (M. Philippe KEMOUN)

PARODONTOLOGIE

Maîtres de Conférences : Mme Sara DALICIEUX-LAURENCIN, Mme Alexia VINEL
Assistants : Mme Charlotte THOMAS, M. Joffrey DURAN
Adjoints d'Enseignement : M. Loïc CALVO, M. Christophe LAFFORGUE, M. Antoine SANCIER, M. Ronan BARRE ,
Mme Myriam KADDECH, M. Matthieu RIMBERT,

CHIRURGIE ORALE

Professeur d'Université : Mme Sarah COUSTY
Maîtres de Conférences : M. Philippe CAMPAN, M. Bruno COURTOIS
Assistants : Mme Léonore COSTA-MENDES, M. Clément CAMBRONNE
Adjoints d'Enseignement : M. Gabriel FAUXPOINT, M. Arnaud L'HOMME, Mme Marie-Pierre LABADIE, M. Luc RAYNALDY,
M. Jérôme SALEFRANQUE,

BIOLOGIE ORALE

Professeur d'Université : M. Philippe KEMOUN
Maîtres de Conférences : M. Pierre-Pascal POULET, M. Vincent BLASCO-BAQUE
Assistants : Mme Inessa TIMOFEEVA, M. Matthieu MINTY, Mme Chiara CECCHIN-ALBERTONI, M. Maxime LUIS
Adjoints d'Enseignement : M. Mathieu FRANC, M. Hugo BARRAGUE, M. Olivier DENY

Section CNU 58 : Réhabilitation Orale

58.01 DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE, PROTHESES, FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX (M. Franck DIEMER)

DENTISTERIE RESTAURATRICE, ENDODONTIE

Professeur d'Université : M. Franck DIEMER
Maîtres de Conférences : M. Philippe GUIGNES, Mme Marie GURGEL-GEORGELIN, Mme Delphine MARET-COMTESSE
Assistants : M. Jérôme FISSE, M. Sylvain GAILLAC, Mme Sophie BARRERE, Mme. Manon SAUCOURT
M. Ludovic PELLETIER, M. Nicolas ALAUX
Adjoints d'Enseignement : M. Eric BALGUERIE, M. Jean- Philippe MALLET, M. Rami HAMDAN, M. Romain DUCASSE

PROTHÈSES

Professeurs d'Université : M. Philippe POMAR
Maîtres de Conférences : M. Jean CHAMPION, M. Rémi ESCLASSAN, M. Florent DESTRUHAUT, M. Antoine GALIBOURG,
M. Antonin HENNEQUIN, M. Bertrand CHAMPION, Mme Margaux BROUTIN, Mme Coralie BATAILLE
Assistants : M. Christophe GHRENASSIA, Mme Marie-Hélène LACOSTE-FERRE, M. Olivier LE GAC, M. Jean-
Claude COMBADAZOU, M. Bertrand ARCAUTE, M. Fabien LEMAGNER,
Adjoints d'Enseignement : M. Eric SOLYOM, M. Michel KNAFO, M. Alexandre HEGO DEVEZA, M. Victor EMONET-DENAND
M. Thierry DENIS, M. Thibault YAGUE

FONCTIONS-DYSFONCTIONS, IMAGERIE, BIOMATERIAUX

Maîtres de Conférences : Mme Sabine JONJOT, M. Karim NASR, M. Paul MONSARRAT, M. Thibault CANCEILL
Assistants : M. Julien DELRIEU, M. Paul PAGES, Mme. Julie FRANKEL
Adjoints d'Enseignement : Mme Sylvie MAGNE, M. Thierry VERGÉ, Mme Josiane BOUSQUET, M. Damien OSTROWSKI

Mise à jour pour le 01 novembre 2021

A notre Président du jury et directeur de thèse,

Monsieur le Professeur Michel SIXOU

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,

Doyen honoraire de la Faculté de Chirurgie Dentaire de Toulouse,

Docteur en Chirurgie Dentaire,

Docteur de l'Université Paul Sabatier,

Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.),

Ancien Vice-Président Délégué à l'Université Paul Sabatier,

Lauréat de l'Université Paul Sabatier.

*Je vous suis très reconnaissante de l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de diriger
cette thèse*

Merci de m'avoir laissé la liberté de traiter un sujet qui me tenait à cœur

Je vous remercie également de l'enseignement que vous m'avez dispensé à l'hôpital

*Votre volonté de toujours me pousser plus loin dans la réflexion pour chaque cas m'a permis
de prendre en indépendance et faire confiance à mes compétences cliniques*

*Par votre soutien, vous avez su trouver les mots pour me guider quand je peinais à trouver
ma voie*

J'admire votre passion pour la recherche, et j'espère vous rendre fier par ce travail

*Veillez recevoir l'expression de mon admiration, de ma gratitude et de mon plus profond
respect.*

A notre Jury de thèse,

A Madame la Docteure MARET-COMTESSE Delphine

Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,

Docteur en Chirurgie Dentaire,

Doctorat de l'Université de Toulouse,

Diplôme Universitaire d'Imagerie 3D,

Master 2 Recherche Epidémiologie Clinique,

CES d'Odontologie Légale,

Diplôme Universitaire de Recherche Clinique en Odontologie (DURCO),

Enseignant-chercheur, Laboratoire Anthropologie Moléculaire et Imagerie de Synthèse (AMIS) CNRS,

Habilitation à Diriger des Recherches (H.D.R.),

Lauréate de l'Université Paul Sabatier.

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de siéger dans ce jury,

Merci pour votre pédagogie, votre optimisme et votre disponibilité

*Je suis admirative devant la ténacité dont vous faites preuve pour nous former à l'odontologie
médico-légale*

*Je vous remercie également pour l'écoute et la patience dont vous avez fait preuve
concernant les problématiques des étudiants que nous avons essayé de défendre au mieux en
tant qu'élus UFR*

Veillez recevoir l'expression de mes plus sincères remerciements.

A notre Jury de thèse,

A Monsieur le Docteur ESCLASSAN Rémi

Maître de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier d'Odontologie,

Habilitation à diriger des recherches (H.D.R.),

Praticien qualifié en Médecine Bucco-Dentaire (MBD),

Docteur de l'Université de Toulouse (Anthropobiologie),

D.E.A. d'Anthropobiologie

Ancien Interne des Hôpitaux,

Chargé de cours aux Facultés de Médecine de Toulouse-Purpan, Toulouse-Rangueil et Pharmacie (L1),

Enseignant-chercheur au Laboratoire d'Anthropologie Moléculaire et Imagerie de Synthèse (AMIS – UMR5288 – CNRS)

Lauréat de l'Université Paul Sabatier.

Vice –Président de la commission des relations internationales UFR Santé

*Je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de siéger dans ce jury,
Merci d'avoir été disponible pour moi dès le Master 1 où votre encadrement m'a poussé à
continuer dans cette voie*

*Vos connaissances et votre passion pour l'anthropobiologie ont toujours été un exemple pour
moi*

Je vous remercie pour la bienveillance et la pédagogie dont vous avez toujours fait preuve

Veillez recevoir l'expression de ma profonde gratitude.

A notre Jury de thèse,

A Monsieur le Docteur PAGES Paul

Assistant Hospitalo-Universitaire d'Odontologie

Docteur en Chirurgie Dentaire

Master 1 Sciences, Technologies, Santé Mention Biologie-Santé

CES Biomatériaux en Odontologie Mention Caractérisation et évolution,

Lauréat de l'Université Paul Sabatier

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de siéger dans ce jury,

Votre présence durant toute la durée de ces études m'a permis de garder la motivation

J'apprécie le chaleureux soutien dont vous avez fait preuve à mon encontre,

Votre activité libérale et votre engagement au sein de la faculté est source d'inspiration

Veillez recevoir l'expression de mes plus grands remerciements et de mon admiration.

A notre Jury de thèse,

A Monsieur le Docteur BOURGEOIS Cédric

Praticien Hospitalier Attaché - CHU Montpellier

Docteur en chirurgie dentaire

Expert Judiciaire Près la Cour d'Appel – Montpellier

Chirurgien-dentiste des Armée Réserviste - 10eme CMA

Master 2 Science Technologie - Mention Santé – SHS

Auditeur IHEDN (Institut des Hautes Etudes de Défense Nationale) - Session 99

DIU Odontologie Médico Légale

CES Odontologie Pédiatrique

DIU Odontologie Pédiatrique, Clinique et Sédation

DIU Apprentissage et Perfectionnement en médecine d'urgence

DU Droit et Santé

DU Odontologie Légale

DU Evaluation dommage corporel appliqué à l'Odontologie

DU Anatomie Chirurgicale et Sectionnelle

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'avoir accepté de siéger dans ce jury,

*Merci pour votre accueil bienveillant au sein de l'équipe d'odontologie médico-légale du
CHU Lapeyronie ainsi qu'au sein de votre bloc opératoire*

J'admire votre implication dans de nombreuses facettes de notre métier

Votre volonté de toujours rechercher l'excellence est motivante

*Je vous remercie de m'avoir montré qu'à travers le métier de chirurgien-dentiste, les façons
de se former et d'exercer pouvaient être aussi riches*

Veillez voir ici l'expression de mon admiration la plus sincère.

Remerciements

A mon père, Guy, qui m'a appris, parfois âprement, la valeur du travail, la persévérance et la volonté de toujours chercher à être la meilleure. Je te dédie cette thèse en espérant avoir été à la hauteur de ce que tu m'as inculqué et que le titre qui en résulte te rendra fier de ta fille.

A ma mère, Françoise, pour son écoute, pour son soutien indéfectible, pour son pragmatisme qui a été d'une grande aide pendant les moments de tempête. Tu as été la meilleure alliée de ces longues études. Premier modèle de ma vie, tu m'as appris à ne m'imposer aucune limite professionnelle. J'espère que tu seras fière de la praticienne et de la femme que je deviendrai.

A mon beau-père, Jean-Pascal, qui m'a montré qu'il fallait s'imposer dans la vie et ne jamais s'excuser d'exister.

A mon frère Arthur, pour son calme et sa bienveillance. Je mesure chaque jour la chance que j'ai d'avoir un frère comme toi. Nos longues discussions et notre complicité me sont très précieuses.

A mes grands-parents Yvonne, qui n'a jamais su que j'allais être dentiste, et Pierre, qui croyait que j'allais être podologue.

A mes grands-parents Lucette et Jacky, à mes tantes Patricia et Sylvie, à ma cousine Léa, à Pascale et Jean-François, pour m'avoir toujours soutenu.

Aux différents praticiens qui ont su me faire confiance, particulièrement le Dr Miquel Gustave à Cajarc, pour m'avoir fait apprécier le libéral.

A toute l'équipe de médecine légale du CHU Lapeyronie, qui a su m'accueillir en victimologie, en garde, en salle d'autopsie. Au Dr Laurent Martrille, avec qui j'ai beaucoup apprécié de travailler durant ce stage de Master 2, qui j'espère sera le début d'une longue entente professionnelle. A Caroline, Marin et Namoudou, avec qui nous formions une équipe de choc. A Cédric, Thomas, Carole et Marie-Luce pour leur accueil chaleureux et inoubliable au sein de l'équipe d'odontologistes légaux.

A ma binôme de clinique Clémentine, que j'admire pour son courage, sa force d'esprit et sa détermination. A nous deux, nous avons formé un praticien à peu près conforme aux données acquises de la science. Notre externat s'est déroulé dans le sang, les larmes et le silicone putty light. Nous y avons vécu mille drames, mille joies, mille déceptions. A nos heures d'attente en clinique, au bloc de pédiatrie de 7h du matin, à nos macdo du mardi midi : longue vie à notre amitié, longue vie à notre carrière.

A Chloé, pour l'amitié qui nous unit, pour nos longues discussions, pour tous les moments précieux partagés et à venir et pour la personne incroyable que tu es.

Aux « dentaires Toulouse », Ben, Chati, Aurel, Ludovic, JV, Théo, Flash, Yona, « en vrai, c'était drôle ». Aux « Caries'matiques » et copains de la promotion. A Bastian, avec qui j'ai partagé 5 très belles années. Merci pour tout ce que nous avons vécu et appris ensemble.

A tous les carab' : Maryne, Mehdi, Louis, Vincent, Bastianelli, Léo, et tous les autres, qui râlaient de me voir moins travailler qu'eux, et avec qui j'ai partagé soirées, bonheur et moments de doute.

A Stéphane, avec qui tout a commencé en septembre 2012, sur les bancs en bois de l'amphithéâtre de la faculté de Ranguel.

A Alex, que je connais depuis 7 ans d'une belle et longue amitié et qui a toujours oublié de me souhaiter mon anniversaire.

A tous les amis, copains, connaissances, ceux de la faluche, ceux du lycée, ceux des DL, ceux qui sont présents aujourd'hui, toutes ces personnes qui ont fait partie de ma vie étudiante et avec qui j'ai rigolé, râlé, fais la fête, et qui ont partagé mes joies et mes peines.

A Méline,

A Paul,

Dont les places resteront vides dans cet amphithéâtre.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	14
I. PULPE DENTAIRE ET INFECTIONS : GENERALITES	15
1. La pulpe.....	15
a. Fonction.....	15
b. Vascularisation et innervation	16
c. Composition	16
d. Pulpe, réaction à l'agression et circulation hématogène des pathogènes	18
2. L'infection.....	19
a. Bactéries	19
b. Virus	21
c. Immunité	23
d. Moyens de détection.....	24
e. Pandémie, épidémie : l'exemple de la peste.....	25
II. PALEOGENOMIQUE ET PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE	28
1. ADN, organisation du génome et ADN ancien	28
2. Outils et techniques en paléogénomique	33
3. Apports de la paléogénomique : l'exemple de la peste	41
III. PALEOPROTEOMIQUE ET PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE	45
1. De l'ADN à la protéine.....	45
1. Identification des protéines anciennes.....	46
2. Une discipline jeune mais prometteuse	51
CONCLUSION	54
ANNEXES	56
Annexe 1 : Principales maladies infectieuses humaines d'origine bactérienne	56
Annexe 2 : Les acides aminés naturels	61
BIBLIOGRAPHIE	62

INTRODUCTION

Dès le XIXE siècle, les dents ont été l'objet d'études anthropologiques. Les paramètres tels que la morphologie de la dent, la taille des couronnes et des racines ainsi que la formule dentaire étant dépendant de la génétique, leurs études permettent d'aborder les potentielles variations inter populationnelles et les trajectoires évolutives. (1) Les facteurs environnementaux sont à l'origine ou vont faire fluctuer les phénomènes comme l'usure, la présence de tartre, les pathologies carieuses, renseignant sur le type d'alimentation ou l'état de santé. (2) La dent est donc un outil précieux.

Plus récemment, l'anthropologie dentaire s'est enrichie de l'apport d'autres champs disciplinaires comme la biologie moléculaire avec l'étude des microbiotes du tartre de populations anciennes. (1) (3) Dans ces collaborations pluridisciplinaires, de plus en plus d'équipes se concentrent non pas sur l'étude du tartre, mais sur l'utilisation du tissu pulpaire de la dent dans l'optique d'accéder à des marqueurs du statut infectieux des populations étudiées.

Dès le Néolithique, les populations humaines ont subi des épidémies sans en comprendre l'origine. L'essor de l'élevage et de l'agriculture, puis plus tard les exodes ruraux et ses concentrations de population ont créé un terreau fertile pour l'émergence des pathogènes. Si l'amélioration des conditions d'hygiène et les progrès de la médecine ont permis le contrôle des infections, l'épidémie de SARS-CoV-2 nous rappelle que le risque est toujours actuel. (4)

Dans ce contexte, il est pertinent de se tourner vers l'étude d'épidémies historiques. La peste étant la plus documentée, elle sera notre fil conducteur de ce travail pour nous apprendre de quelle manière la pulpe dentaire, et les différentes techniques de biologie moléculaire que sont la paléogénomique et la paléoprotéomique, peuvent nous renseigner sur les épidémies du passé.

I. PULPE DENTAIRE ET INFECTIONS : GENERALITES

1. La pulpe

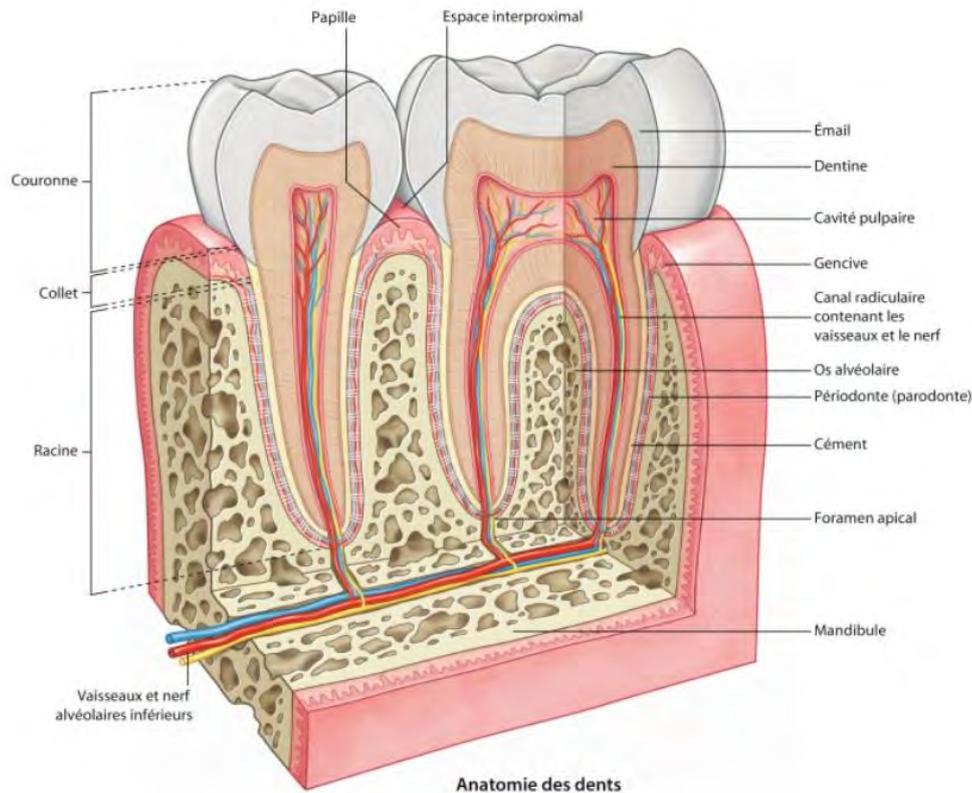


Figure 1 : Anatomie des dents (5)

L'organe dentaire se divise en deux entités : le parodonte, rassemblant les tissus de soutien de la dent, et l'odonte, constitué d'émail, de dentine, et de la cavité pulpaire. La dentine participe à la constitution de la couronne, partie intra-orale de la dent, où elle est recouverte d'émail, ainsi qu'à la constitution des racines, où elle est recouverte de cément. (Figure 1) L'émail, tissu acellulaire, est formé de cristaux d'hydroxyapatite, lui conférant une résistance exceptionnelle. Il fait partie, avec la dentine, des tissus les plus durs de l'organisme. On retrouve dans la cavité pulpaire un tissu conjonctif de structure tridimensionnelle, vascularisé et innervé : la pulpe dentaire. (6)

a. Fonction

La pulpe dentaire a pour fonction essentielle d'apporter les éléments nécessaires aux cellules responsables de la dentinogénèse. Afin d'assurer ce rôle nutritif, le renouvellement des cellules doit être constant, ce qui en fait un tissu au vieillissement lent. Elle joue également un

rôle sensitif, renseignant à la fois les messages douloureux mais également l'évaluation de pression, de variations thermiques, et les lésions des tissus minéralisés. Enfin, elle présente une fonction de réparation par l'implication de cellules pulpaire progénitrices dans des processus de formation de « dentine de réparation », dont la maîtrise semble prometteuse dans le domaine de l'ingénierie tissulaire au service de la clinique. (7)

b. Vascularisation et innervation

Anatomiquement, la pulpe se divise en une pulpe camérale et une pulpe radulaire. Le système artérioveineux de la pulpe camérale s'organise de telle sorte que les artérioles issues de la partie apicale de la dent se divisent en artérioles primaires et secondaires puis en pré-capillaires et capillaires ; le flux sanguin repart par des veinules secondaires puis primaires avant d'être repris à l'apex par un système veineux plus important. Il en résulte une organisation « en boucle » qui a pour avantage d'avoir une même quantité de sang arrivant et drainée par le système veineux, ainsi que la possibilité de dérivation d'un territoire via notamment des shunts artérioveineux, si une agression locale provoque une surcharge ce qui permet une diffusion limitée des toxines bactériennes. La lymphe dentaire s'organise par une diffusion centripète et se collecte par des capillaires lymphatiques avec une membrane basale discontinue permettant la diffusion de la lymphe entre les cellules ce qui en favorise sa collection. Les veines lymphatiques évacuent la lymphe pulpaire et se collectent dans les ganglions lymphatiques sous mentaux et les chaînes ganglionnaires du cou. (7)

L'innervation de la pulpe camérale se développe une fois la pulpe constituée à partir d'axones voisins qui colonisent le territoire pulpaire par reptation ou par glissement (sprouting). (7)

Le système vasculo-nerveux radulaire se met en place après celui de la couronne puis les deux systèmes cohabitent lors de la formation de la racine et finissent par se complexifier. Les capillaires de la pulpe radulaire sont organisés en « filet de pêche », dont la conséquence principale est que, contrairement à la pulpe coronaire, une inflammation ou un thrombus consécutif à une agression provoque une ischémie de tout le territoire pulpaire radulaire. (7)

c. Composition

Comme tout tissu conjonctif, la pulpe est constituée de cellules et d'une matrice extracellulaire.

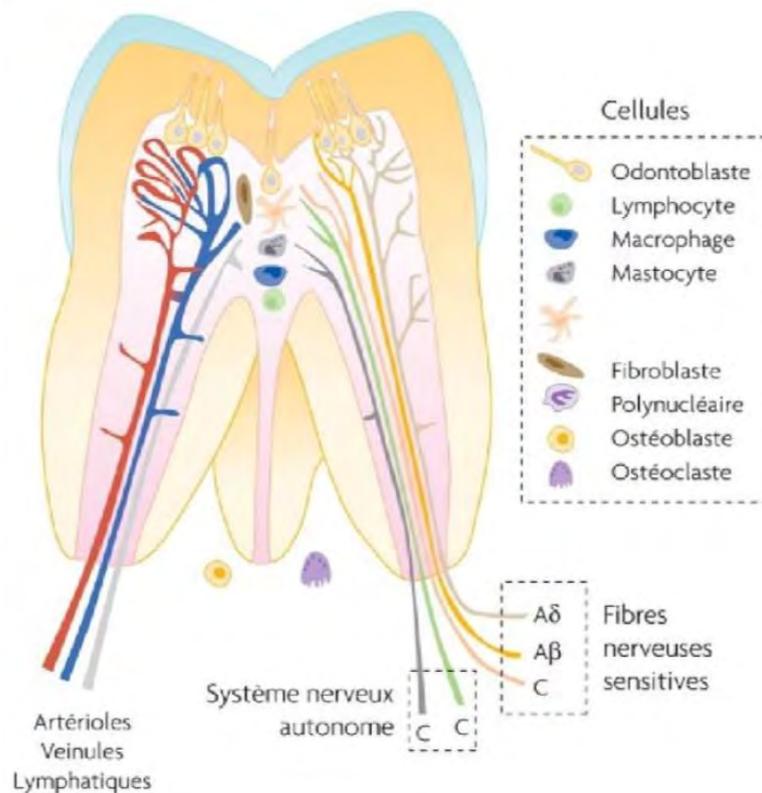


Figure 2 : Vue schématique des principaux constituants de la pulpe (8)

Parmi les cellules impliquées dans la vascularisation, on retrouve les cellules endothéliales, les péricytes, et les cellules musculaires lisses qui permettent de moduler rapidement le débit sanguin. Les axones du système nerveux sensitif et autonome sont les cellules responsables de l'innervation de la pulpe dentaire. Les pulpoblastes, cellules de structure de type fibroblastique, forment et renouvellent la matrice extracellulaire de la pulpe, dont la viscoélasticité permet l'adaptation aux variations de pression des processus inflammatoires. Les odontoblastes sont les cellules produisant la dentine et responsables de sa minéralisation. Très différenciés, organisés en palissade unicellulaire en périphérie de la pulpe dentaire, ils ont la particularité de n'avoir que leur prolongement cellulaire enclavé dans la matrice cellulaire qu'ils sécrètent, les canalicules dentinaires. C'est la raison pour laquelle la dentine est considérée comme un complexe dentino-pulpaire et non pas comme une entité individuelle. Enfin, la pulpe renferme de manière physiologique des cellules immunitaires tels que des macrophages, des lymphocytes et des mastocytes. (Figure 2) (8)

d. Pulpe, réaction à l'agression et circulation hématogène des pathogènes

Lorsque les pathogènes colonisent la trame minérale de la dent, ils créent une porte d'entrée vers la pulpe dentaire. Dès l'atteinte dentinaire, les pathogènes ou leurs métabolites diffusent à travers les canalicules dentinaires engendrant une réponse inflammatoire se traduisant par une augmentation du flux sanguin pulpaire et donc de la pression intra pulpaire mais aussi une réponse immunitaire innée et acquise de la pulpe. (8)

Mais, du fait de sa vascularisation riche, puisqu'elle représente 15% de son volume, la pulpe dentaire devrait aussi permettre aux pathogènes à diffusion hématogène de coloniser ce tissu. (8)

Les premières études allant dans le sens de cette hypothèse expérimentaient l'effet anachorétique de la pulpe, c'est-à-dire la fixation et la localisation de bactéries de la circulation systémique dans les zones inflammatoires. Mais si on retrouve bien des bactéries à dissémination hématogène dans la pulpe dentaire, les expérimentations de l'anachorèse pulpaire ne concernent que les dents qui subissent un phénomène inflammatoire avec ou non exposition pulpaire. (9) (10) (11)

Les études suivantes ont donc entrepris d'expérimenter la colonisation bactérienne de la pulpe de la dent saine par voie sanguine après inoculation bactérienne de modèles animaux. De cette manière, *Coxiella burnetii*, l'agent pathogène responsable de la fièvre Q, a été retrouvée dans la pulpe de dents saines de cochons d'Inde infectés. Grâce à cette première expérimentation, la pulpe dentaire devient un spécimen intéressant pour le diagnostic de bactériémie. (12,13) En détectant *Bartonella henselae* dans la pulpe dentaire de chat enterrés depuis un an, la dent montre également le potentiel protecteur envers sa pulpe. (14)

La pulpe semble donc pouvoir être considérée comme un réservoir de tissus associés au système vasculaire. L'étude du mécanisme infectieux permet d'avoir une vue d'ensemble des pathogènes que nous pouvons retrouver dans la pulpe et leur fonctionnement.

2. L'infection

Une infection se définit comme « l'envahissement d'un organisme par un agent étranger tel que bactérie, virus, parasite ou champignon, capable de s'y multiplier, et l'ensemble des conséquences pathologiques qui peuvent en résulter. » (15) Les agents infectieux ou agents pathogènes peuvent donc être une bactérie, un virus, un parasite ou un champignon.

a. Bactéries

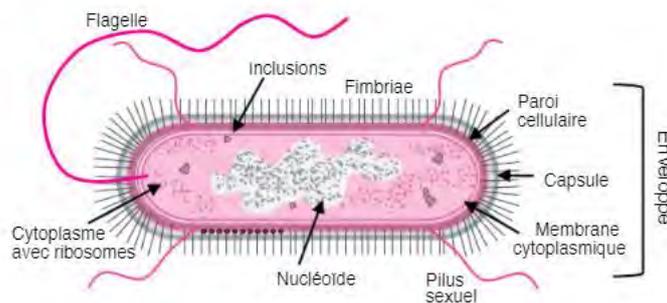


Figure 3 : Structure et organisation d'une cellule procaryote (16)

Les bactéries sont des organismes dit procaryotes, caractérisés par

- l'absence de membrane nucléaire et de membranes internes dans le cytoplasme,
- la présence d'une paroi cellulaire qui définit la forme et assure l'intégrité cellulaire. Selon les bactéries, elle peut être composée de peptidoglycane, un polymère complexe, ou des lipopolysaccharides peuvent entrer dans la composition des constituants membranaires. Sur son versant interne, se situe la membrane interne, ou membrane cytoplasmique, et sur son versant externe on retrouve, chez de nombreuses bactéries, une capsule, élément protecteur constituée de polysaccharides. Les trois structures forment l'enveloppe.
- et de certaines caractéristiques des constituants du cytoplasme. (Figure 3) (16)

Les bactéries présentent des diversités de formes qui caractérisent les organismes unicellulaires dont font partie les procaryotes. On retrouve principalement les bâtonnets, spirales, sphères, mais de nombreuses morphologies existent. (Figure 4) Elles mesurent entre 1 à 10 μm , elles

sont donc 10 à 100 fois plus petites que les cellules eucaryotes¹. Les bactéries se reproduisent par division ou scission. (16)

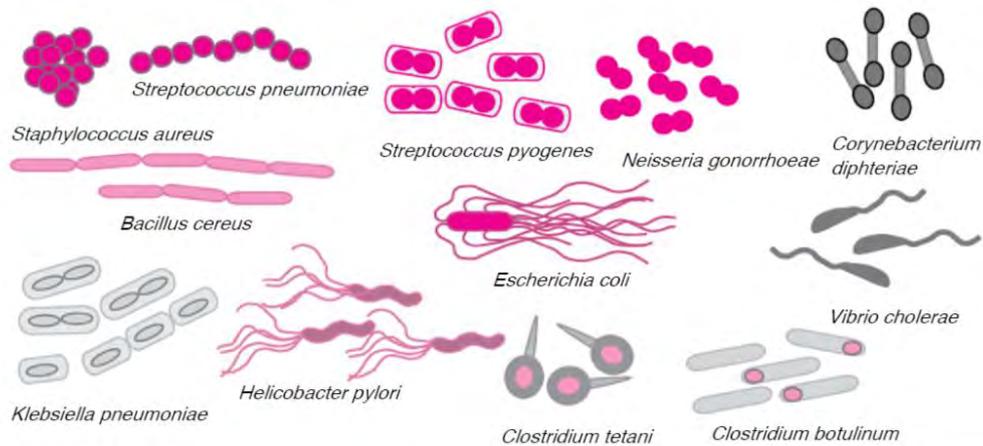


Figure 4 : Morphologies cellulaires de quelques espèces procaryotes (16)

Les interactions entre l'hôte et la bactérie peuvent être de plusieurs sortes : le mutualisme, ou symbiose, où les partenaires bénéficient chacun de l'interaction, le commensalisme où seul un partenaire bénéficie de l'interaction sans que cela soit bénéfique ou nuisible à l'autre, le parasitisme où un partenaire bénéficie de l'interaction qui est néfaste pour l'autre. Les bactéries dites pathogènes parasitent leur hôte jusqu'à leur disparition soit par le système immunitaire de l'hôte soit par la mort de l'hôte. La pathogénicité peut être obligatoire, entraînant systématiquement la maladie, ou opportuniste, c'est-à-dire que l'hôte doit être dans des conditions particulières pour que la maladie apparaisse : une défaillance du système immunitaire ou une rupture de l'équilibre du microbiote lors de dysbiose. Seuls un nombre restreint de bactérie ont une pathogénicité obligatoire, mais ce sont pourtant ces bactéries à l'origine de maladies qui ont le plus marquées l'histoire (16) (Annexe 1)

Le mécanisme de la pathogénèse bactérienne se fait généralement en 4 phases : la transmission, la colonisation, l'adhérence puis l'invasion. Une infection comme par la transmission de l'agent pathogène depuis une source, environnementale (aliment, plantes, sol ou eau) ou animale, à l'hôte. Cette phase de transmission est suivie par la colonisation de l'hôte par la bactérie. Les bactéries font alors face, chez l'Homme à un ensemble de défenses non spécifiques à l'agent pathogène : défenses antibactériennes de la peau et des muqueuses, mucus,

¹ Cellule eucaryote : à l'inverse d'une cellule procaryote, une cellule eucaryote se caractérise par la présence d'un noyau séparé du reste de la cellule par une membrane.

acide gastrique, bile au niveau du tractus digestif. L'agent pathogène passe par une phase d'adaptation essentielle à sa survie et à sa multiplication cellulaire, sans toutefois s'accompagner d'une invasion tissulaire. Pour éviter l'élimination de l'agent pathogène par l'hôte, il s'en suit une étape d'attachement aux tissus : surfaces solides, surfaces de cellules, matrice extracellulaire. Puis arrive la phase d'invasion caractérisée par la capacité de l'agent pathogène à envahir les tissus à partir du foyer infectieux initial : elle est très courante chez les bactéries pathogènes mais pas systématique notamment chez les bactéries à croissance extracellulaire comme celles produisant des toxines locales ou diffusantes. Ce sont des substances qui vont provoquer une modification du fonctionnement des cellules et de l'hôte de manière délétère. Elles peuvent être des endotoxines ou des exotoxines selon leur nature chimique et leur localisation : les premières participent à la constitution de la paroi bactérienne et vont donc être retrouvée lors de lyse bactérienne ou de la multiplication des agents pathogènes à Gram négatif, les secondes sont des protéines solubles principalement sécrétées par les bactéries avec un fort potentiel toxique même à faible dose. (16)

b. Virus

Contrairement aux bactéries qui possèdent leur propre métabolisme, les virus sont des agents biologiques qui parasitent les cellules de manière obligatoire : en effet, ils dépendent des ressources de la cellule hôte pour métaboliser, produire de l'énergie ou se multiplier. Bien que présentant une grande hétérogénéité dans leur taille (de quelques dizaines de nm à près d'1 μm), ce sont parmi les plus petits microorganismes décrits à ce jour ; ils font près d'un dixième de la taille des bactéries et un centième de la taille d'une cellule animale. Dépourvus de noyau, ou d'organite, un virus ne dispose que de son matériel génétique, protégé dans une capside éventuellement entourée d'une enveloppe (virus nu ou enveloppé). Ce strict nécessaire lui permet d'assurer deux fonctions : le maintien de son information génétique et, par le détournement de la machinerie cellulaire, de leur mécanisme infectieux. (17)

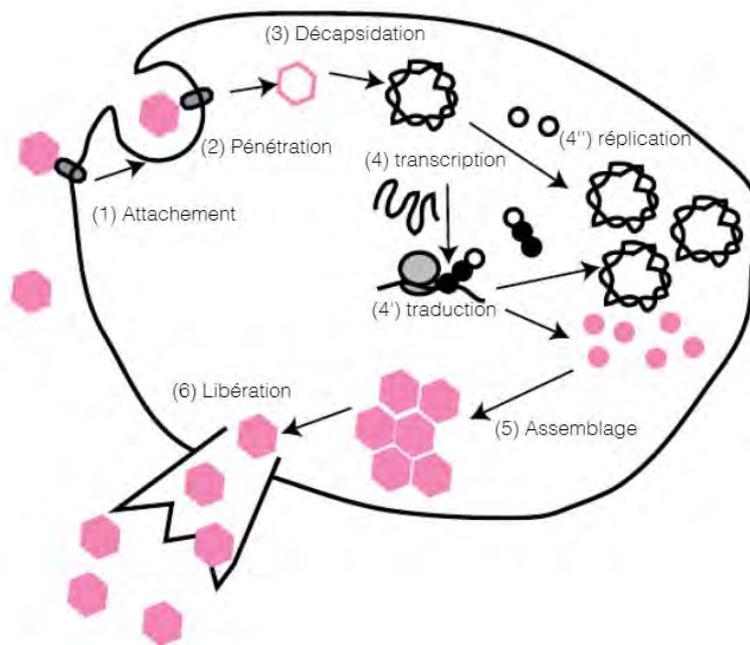


Figure 5 : Les différentes étapes de la multiplication des virus. Les principales étapes de la répllication virale sont schématiquement représentées dans une cellule et numérotées dans l'ordre de 1 à 6. Les étapes 4, 4' et 4'' sont souvent intriquées (18)

Les virus ne se reproduisent pas, ils se répliquent. Cette répllication virale passe par plusieurs étapes (Figure 5). La première phase de reconnaissance et d'attachement {1}, met en relation les glycoprotéines de l'enveloppe ou les protéines de la capsid du virion, c'est-à-dire le virus dans sa forme extracellulaire, et les récepteurs de la membrane de la cellule-hôte à travers une interaction irréversible spécifique. Une cellule sensible possèdera le récepteur nécessaire à l'attachement du virion, à l'inverse d'une cellule résistante qui ne peut être infectée. L'internalisation du génome viral se fait lors de la phase de pénétration {2} : soit par endocytose, la membrane cytoplasmique de la cellule-hôte s'invagine alors et la particule virale se retrouve dans une vésicule membranaire au sein du cytoplasme de la cellule ; soit par fusion des enveloppes virales et de la membrane cytoplasmique de la cellule hôte, mécanisme uniquement retrouvés chez les virus enveloppés. Au cours de la décapsidation {3} se produit la libération du génome viral, qui sera répliqué {4''}, transcrit {4} et traduit {4'} en protéines en utilisant la mécanique de transcription et de traduction de la cellule. Les protéines vont alors mûrir dans le cytosol de la cellule afin de devenir fonctionnelles puis s'assembler {5} pour ensuite être libérées progressivement ou s'accumuler jusqu'à la lyse de la cellule et trouver une autre cellule hôte afin de perpétuer un nouveau cycle viral. (18)

c. Immunité

Face à l'invasion par des éléments étrangers, l'organisme va mettre en place des mécanismes de défense : l'immunité innée, et l'immunité adaptative. La réponse immunitaire innée se définit comme une réponse immédiate, non spécifique au pathogène. Elle fait intervenir des acteurs extracellulaires, entre autres les cellules Natural-Killer (NK) cytotoxiques, les macrophages, ou encore les polynucléaires neutrophiles, et des acteurs intracellulaires, les cytokines notamment les interférons. Son rôle est également de recruter l'immunité adaptative via la maturation des cellules dendritiques, les cellules présentatrices d'antigènes. L'immunité adaptative intervient dans un second temps. Contrairement à l'immunité innée, elle se caractérise par la mise en place d'une mémoire immunologique durable à la suite d'une primo-infection. Elle permet une réponse plus efficace en cas de réinfection. Elle est principalement à médiation cellulaire puisqu'elle fait intervenir les lymphocytes B, les lymphocytes T CD8+ et les lymphocytes T CD4+ dits « T helper ». Les lymphocytes B mûrent en plasmocytes, qui vont produire des anticorps, molécules se fixant à des schémas protéiques spécifiques du pathogène, appelés antigènes, afin de les neutraliser. Sous cette forme de complexes immuns, ils deviennent la cible de la lyse cellulaire programmée par les lymphocytes T CD8+, aidé par les lymphocytes T CD4+.

Dans le cas d'une infection virale, le résultat de l'action du système immunitaire sera la diminution de la charge virale, c'est-à-dire la quantité de virus dans le sang. (Figure 6) (18)

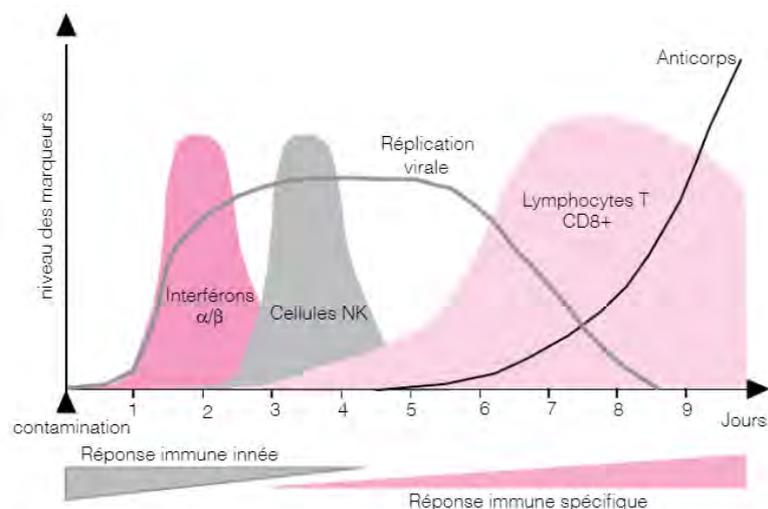


Figure 6 : Chronologie de la réponse antivirale. Succession des différents éléments de la réponse immunitaire innée et de la réponse immunitaire adaptative à partir de la contamination. La réplication virale est en général limitée par la réponse innée puis inhibée jusqu'à son contrôle ou à l'éradication du virus par la réponse adaptative spécifique. (18)

Si la pulpe réagit par un mécanisme inflammatoire et immunitaire lorsque qu'elle subit une agression infectieuse intéressant les tissus minéralisés de l'odonte, lorsque la porte d'entrée infectieuse n'est pas dentaire mais que sa diffusion est hématogène, la pulpe devient seulement un témoin vasculaire de l'infection. La détection des bactéries et des virus doit donc se réaliser de la même manière que pour un extrait sanguin.

d. Moyens de détection

Afin de diagnostiquer une infection, les critères cliniques ne sont pas suffisants car très peu spécifiques. Des tests de diagnostic de laboratoire sont donc indispensables. A partir d'un échantillon biologique, majoritairement un prélèvement sanguin, ou de salive ou de liquide céphalo-rachidien plus rarement, on peut effectuer des tests de détection directs, où l'on met en évidence la présence de l'agent pathogène, ou des tests de détection indirects où l'on recherche la réponse immunitaire à l'infection de l'hôte. (18)

Dans le cas des infections bactériennes, on retrouve parmi les méthodes directes : les examens directs microscopiques après coloration de Gram, l'amplification biologique par culture bactérienne, le diagnostic moléculaire par PCR et la détection d'antigènes bactériens. La coloration de Gram est également connue pour permettre de distinguer et classifier les bactéries. En effet, selon la constitution de leur paroi, elles ont une affinité tinctoriale différente à certains colorants : cette caractéristique est à la base de la coloration de Gram. Le principe de la technique passe par l'utilisation du cristal violet oxalaté (violet de gentiane), du lugol, de l'alcool acétone, et de la fuchsine. Le cristal violet colore la paroi de toutes les bactéries en violet, puis il est fixé grâce au lugol. Ensuite, l'alcool acétone décolore les bactéries dont la membrane, moins riche en peptidoglycanes, est perméable à l'alcool. Enfin la fuchsine sert de contre-coloration rose des bactéries décolorées par l'alcool. Les bactéries dites « Gram négatif », dont les lipopolysaccharides entrent dans la composition des constituants membranaires, sont colorées en rose et les bactéries « Gram positif », constituées de peptidoglycanes uniquement, sont colorées en violet. (19)

Parmi les méthodes indirectes, on retrouve les méthodes de détection des anticorps, fondées sur la formation de complexes immuns. (20)

Dans le cas des infections virales, pour les diagnostics directs, on retrouve la microscopie électronique, qui n'est plus utilisée en pratique courante, la culture virale, de nombreux virus étant capables de se multiplier sur des supports cellulaires adaptés, la détection d'antigènes et la détection des génomes viraux. La détection d'antigène peut se faire directement sur l'échantillon biologique ou sur une mise en culture cellulaire. Parmi les techniques les plus connues on retrouve l'immunofluorescence directe et indirecte qui consistent à marquer avec un fluorophore soit un anticorps reconnaissant l'antigène viral soit un antigène reconnaissant l'anticorps reconnaissant l'antigène viral. Citons également l'immuno-enzymologie, basée sur le même principe que l'immunofluorescence mais où le marquage se fait avec une enzyme dont l'ajout de son substrat provoque une réaction colorée ; le test le plus connu étant le test ELISA, utilisé sur des échantillons biologiques plutôt liquides.

Parmi les diagnostics indirects, on va chercher à détecter les anticorps spécifiques, ou à détecter les interférons. En détectant les anticorps spécifiques, issu de la réponse immunitaire adaptative, on peut également détecter le statut vaccinal d'un individu, ou dater la primo-infection virale. De nombreuses méthodes peuvent être utilisées mais la plus courante est l'immuno-enzymologie. (18)

Les méthodes utilisées dans la détection des génomes pour les diagnostics d'infections virales et bactériennes sont à la base de la paléogénomique des maladies infectieuses. Lorsque les agents infectieux se transmettent d'homme à homme, ils peuvent provoquer des problèmes de santé publique et conduire à un phénomène épidémique voir pandémique.

e. Pandémie, épidémie : l'exemple de la peste.

Les maladies infectieuses restent aujourd'hui une cause majeure de décès au niveau mondial, puisqu'elles étaient responsables, en 2002 de 26% de la mortalité globale. Leur impact présente de grosses disparités selon les continents et au sein même des régions. Si de nouvelles maladies émergent en raison de l'apparition de nouveaux pathogènes tels que le VIH responsable du SIDA ou le variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob, on observe également des réémergences de maladies dites « anciennes » telles que la tuberculose ou la peste dont une résurgence a été décrite en 1994 en Inde. Elles redeviennent ainsi des menaces sérieuses pour la santé publique notamment lorsque certaines souches bactériennes deviennent résistantes à tous les traitements

de première intention et à certains traitements de seconde intention comme c'est le cas pour le bacille de Koch responsable de la tuberculose. (16) (21)

En épidémiologie, la distinction est faite entre une épidémie, qui se caractérise par une infection localisée géographiquement et sur une courte période, et une pandémie où l'infection part d'une zone localisée puis s'étend au monde entier. Les facteurs favorisant la survenue d'une épidémie sont multifactoriels et concernent aussi bien la virulence ou le mode de transmission des pathogènes, que les mouvements de populations et l'érosion de la biodiversité. (22) (23)

Le coût humain et économique de ces crises sanitaires peut marquer durablement les sociétés, comme illustré par l'exemple de la peste.

La peste est une maladie infectieuse causée par la bactérie Gram-négatif *Yersinia pestis*, issue du même genre que la bactérie *Yersinia pseudotuberculosis*. Ces deux bactéries diffèrent en termes de virulence et de transmission. Présente en Europe, Asie, Afrique et aux Amériques, les hôtes principaux de *Y.pestis* sont les rongeurs. La transmission entre les hôtes est facilitée par les puces, notamment *Xenopsylla cheopis*, une espèce spécifiquement liée au rat noir *Rattus rattus*. En effet, *Y. pestis* colonise la puce en y formant un biofilm qui bloque une portion antérieure de son estomac, le proventricule. Ce phénotype est déterminé par l'activité du gène *ymt* (Yersinia murine toxin), présent sur le plasmide pMT1 de *Y. pestis* et absent chez *Y. pseudotuberculosis*. En conséquence, le biofilm créé empêche le sang, dont se nourrit la puce, d'entrer dans son système digestif, la laissant affamée. En réaction, l'insecte intensifie son comportement d'alimentation et favorise alors la transmission de *Y. pestis* aux hôtes non infectés.

Chez l'Homme, la peste peut se présenter sous trois formes : la peste bubonique, la peste pneumonique, ou la peste septicémique. La peste bubonique est la forme la plus commune et peut causer jusqu'à 60% de mortalité en l'absence de traitement. Dans cette forme de la peste, à la suite d'une morsure de puce infectée, les bactéries disséminent jusqu'au nœud lymphatique le plus proche qu'elles envahissent en masse provoquant des gonflements appelés bubons. Elles peuvent également provoquer une peste septicémique secondaire et envahir les poumons, causant une atteinte pulmonaire secondaire. Ces deux formes sont hautement létales puisqu'elles atteignent 100% de mortalité lorsqu'elles sont non traitées. Seule la forme pulmonaire a une transmission interhumaine. (24)

En 1347 se propage la peste noire par les routes commerciales maritimes et fluviales entraînant des pertes humaines importantes puisqu'un quart des villages est détruit et près de la moitié de

la population d'Europe occidentale meurt. Devant cette mortalité exceptionnelle, qui en plus touche particulièrement les prêtres qui s'occupent des mourants, la population alla jusqu'à remettre en question ses croyances religieuses. Emerge alors un cynisme populaire généralisé à l'égard de l'église et de son statut, qui servit de base à la Réforme. Cette épidémie meurtrière marque également la structure sociale de la société. La paysannerie, se trouvant dans une position plus forte que la classe dirigeante, instaure une série de révoltes qui contribue à la fin du servage dans la plupart de l'Europe occidentale. Or l'Europe orientale, bien moins touchée par la peste noire en raison de sa faible densité de population, voit le servage perdurer jusqu'à son abolition en 1861 par le tsar Alexandre II en Russie. Certaines hypothèses postulent que cette différence de statut des travailleurs agricoles aurait contribué, dans une certaine mesure, aux différences économiques, toujours subsistantes aujourd'hui en Europe. (21)

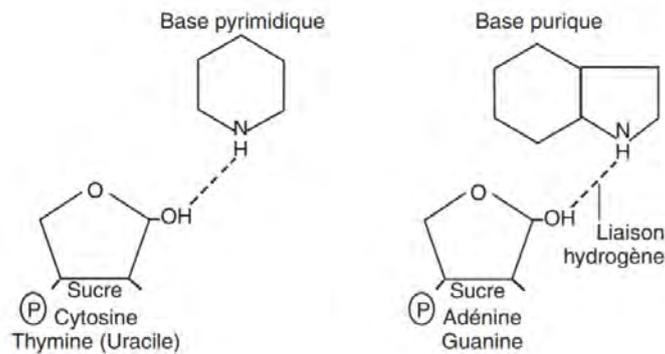
L'impact des maladies infectieuses au niveau populationnel peut, dans certaines conditions, être marquant et durable. Le diagnostic de ces infections bactériennes ou virales peut se faire par des moyens de détection nombreux utilisés sur un prélèvement sanguin, échantillon biologique le plus communément utilisé. La structure de la pulpe en fait un extrait sanguin protégé dans une gangue de tissus minéralisés. Devant la résurgence de certaines maladies infectieuses dites « anciennes », l'anthropobiologie a tout intérêt à se pencher sur la pulpe dentaire pour y chercher des informations concernant nos épidémies du passé.

II. PALEOGENOMIQUE ET PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE

La paléogénomique est un champ disciplinaire qui s'intéresse à la détection et à l'analyse des molécules d'ADN ancien. Elle nécessite une connaissance approfondie de l'organisation de notre génome. (1) (25)

1. ADN, organisation du génome et ADN ancien

L'acide désoxyribonucléique, molécule composant principalement notre génome, représente un ensemble de plusieurs nucléotides, organisés en deux brins complémentaires et antiparallèles. Chaque nucléotide se compose d'une base azotée, d'un phosphate et d'un sucre. Les différentes bases azotées sont à l'origine des variations de nucléotides : thymidine, adénosine, guanosine, cytosine. L'organisation par paire (AT et CG) de ces nucléotides via des liaisons hydrogènes sont responsables de la structure en double brins de l'ADN. (26) (27) (Figure 7)



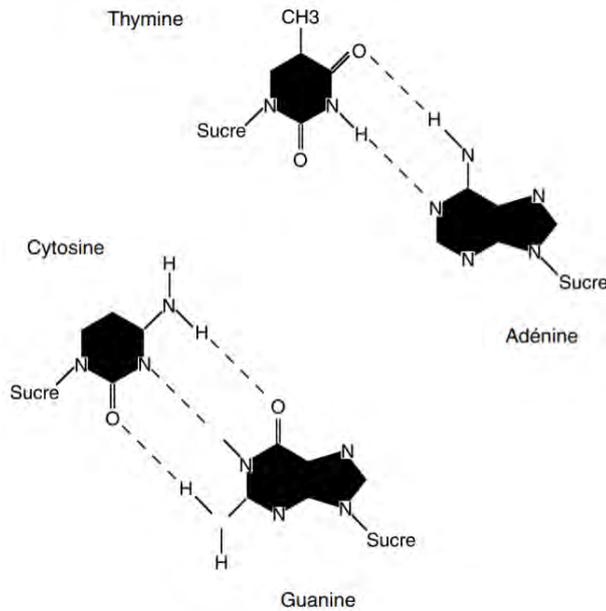


Figure 7 : Structure d'un nucléotide en fonction de la base : pyrimidique pour la cytidine et la thymidine, purique pour l'adénosine et la guanosine (en haut). Organisation par paire des nucléotides complémentaires par des liaisons hydrogènes (en bas) (28)

Les molécules d'ADN sont retrouvées dans le noyau mais également dans les mitochondries, usine énergétique de la cellule. Chez l'homme elles forment 46 molécules présentes dans le noyau où elles s'organisent sous la forme de 23 paires dans chaque cellule, à l'exception des gamètes ou cellules sexuelles qui sont des cellules haploïdes, ce qui signifie qu'on retrouve uniquement 23 molécules d'ADN. Lors de la fécondation les deux gamètes fusionnent leur matériel génétique haploïde pour donner un zygote au génome diploïde à partir duquel dériveront toutes les cellules de l'organisme. L'ensemble de ce matériel génétique est appelé le génome et se divise donc en génome nucléaire et génome mitochondrial. Le génome humain contient 3 milliards de paires de bases. (26) (27)

Les gènes correspondent à une partie de l'ADN qui va être transcrite en acide ribonucléique ou ARN dans le noyau afin de transporter l'information génétique dans le cytoplasme où une partie de l'ARN va être traduite en protéines après épissage. Ces étapes sont possibles grâce à la complémentarité des bases ADN et ARN à l'exception de la thymine qui devient l'uracile dans la molécule d'ARN mais aussi grâce à la correspondance entre triplets de bases ou codons et acides aminés. 64 codons existent, dont 3 ne codent pour aucun acide aminé, ce sont les codons stop qui marquent la fin de la traduction. Les 61 codons suivants codent pour 22 acides aminés ; certains triplets codent pour plusieurs acides aminés ; on dit du code génétique qu'il est dégénéré. (Figure 8) (26) (27) (29)

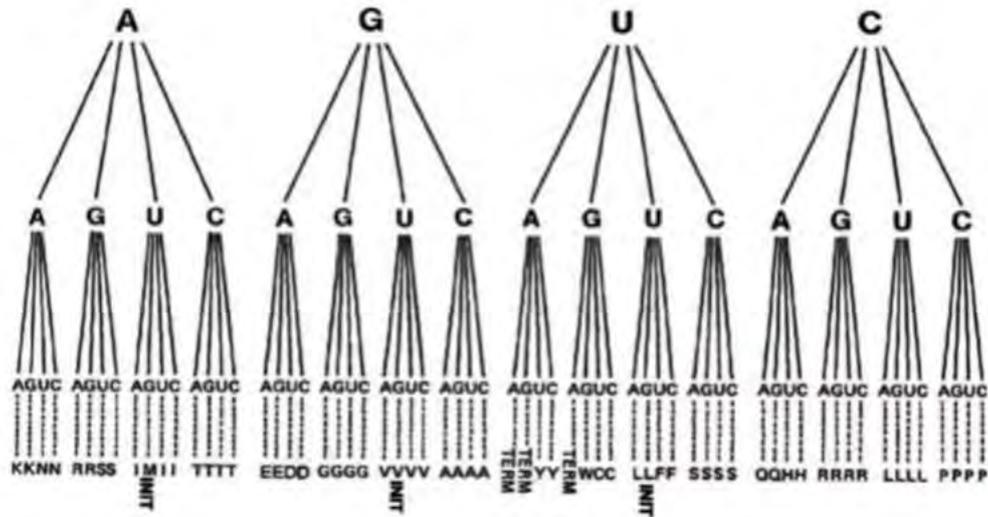


Figure 8 : Code génétique dégénéré. Dans l'ARN messager, les 4 bases spécifient des triplets de codons. INIT et TERM indiquent les codons d'initiation et de terminaison. (29)

Les molécules d'ADN ne se présente pas sous forme libre dans le noyau. Elles forment un complexe autour de protéines basiques, les histones, présentes sous 5 formes dont H2A, H2B, H3, H4 vont s'organiser en octamère autour duquel s'enroulent l'ADN ; H1 viendra stabiliser cette structure, appelée nucléosome. L'enchaînement des nucléosomes, comprenant chacun 146 pb, prend l'aspect en microscopie électronique d'un « collier de perles ». Cet ensemble est ensuite compacté sur la forme de fibre chromatinienne. La chromatine va pouvoir se condenser sous forme de chromosomes lors de la métaphase de la division cellulaire afin de faciliter les échanges de matériel génétique. (Figure 9) (26) (27)

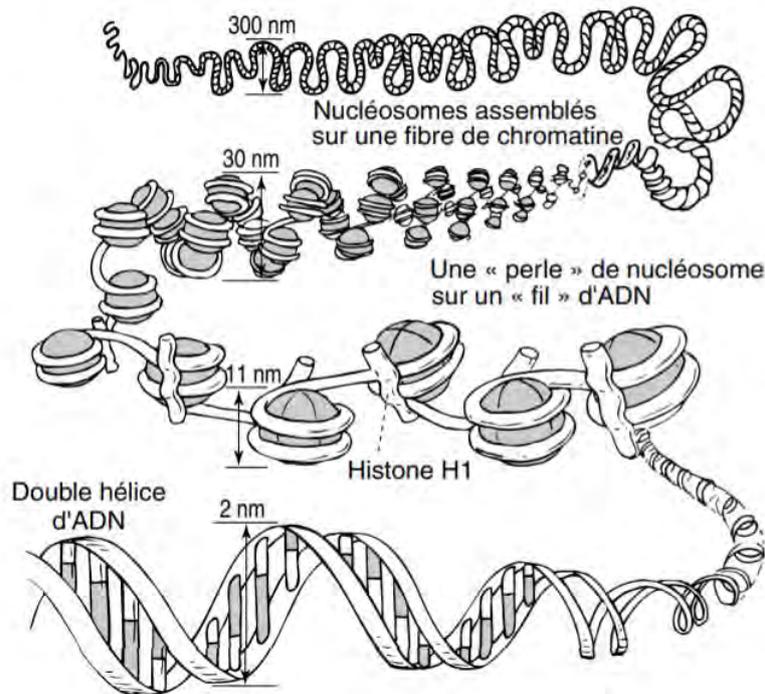


Figure 9 : Différents états de compaction de l'ADN (Illustration G. Blanchet) (28)

A la partie globulaire des histones s'ajoute une extrémité libre N-terminale appelée « queue d'histone », cible de modifications post-traductionnelles responsables du degré de compaction de la fibre chromatinienne, le « code des histones ». En compactant ou en relâchant la chromatine, on contrôle la transcription des gènes ; ainsi les parties en conformation fermée, où la chromatine est compactée, laisseront moins d'accès à la machinerie transcriptionnelle contrairement aux zones de génome moins compactées où la transcription sera plus active. Dans un même organisme, on peut donc trouver des cellules avec un génotype identique mais au phénotype divergent en raison des compactions différentes des régions contenant des gènes spécifiques aux fonctions de ces cellules. Cela fait partie de l'épigénétique, qu'Adrian Bird définit comme « l'adaptation structurelle de régions chromosomiques permettant d'enregistrer, de signaler ou de perpétuer des états d'activité modifiés » et que nous pouvons simplifier par le contrôle de la transcription génique indépendant de la séquence nucléotidique. (26) (30)

Si le code génétique est considéré comme universel car il est le même pour la quasi-totalité des espèces vivantes, son organisation varie chez les procaryotes. (26) La grande majorité des procaryotes est haploïde, quoique leur nombre de copies de chromosomes puisse varier. L'ADN n'est pas confiné dans un compartiment clos mais est structuré par des protéines, en une organisation appelée nucléoïde. Il est présent généralement sous la forme d'une molécule

circulaire unique, présente parfois en plusieurs copies dans les cellules. En plus des gènes essentiels, nécessaire à la viabilité de l'organisme procaryote, on retrouve des gènes accessoires (Eléments génétiques accessoires ou EGA), parfois retrouvés libres dans le cytoplasme où leur réplication sera alors un mécanisme autonome. Les EGA sont responsables du potentiel adaptatif des procaryotes et sont à l'origine de l'individualité de chaque espèce et sous espèce de procaryote. (16)

Lorsque l'ADN est retrouvé sur des restes historiques, archéologiques ou paléontologiques, on parle alors d'ADN ancien. Si l'ADN peut se conserver dans le temps, il n'en demeure pas moins extrêmement dégradé. Les dommages et modifications post-mortem qu'il accumule au cours du temps peuvent être caractérisés. On retrouve beaucoup de fragmentations des brins, notamment au niveau des bases puriques, de modifications de bases voir des sites abasiques. Les principales modifications de bases retrouvées sont les désaminations des cytosines en uraciles ou, lorsque les cytosines sont méthylées, leur désamination en thymines. Ce genre de modifications interviennent particulièrement aux extrémités des molécules d'ADN. (Figure 10) (31)

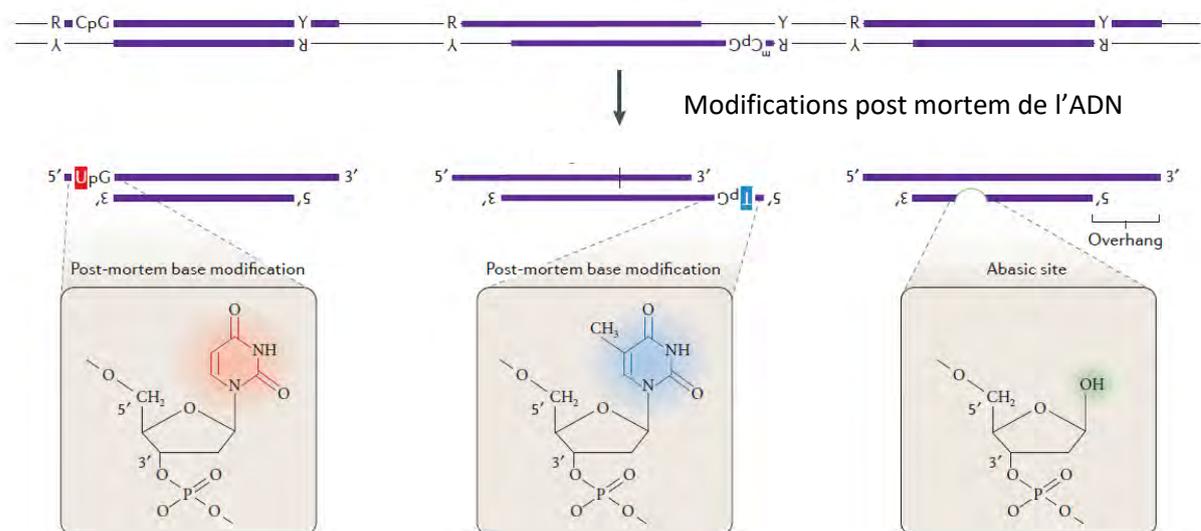


Figure 10 : Différents types de molécules d'ADN ancien fréquemment retrouvées. En rouge : désamination de cytosine en uracile. En bleu : désamination de cytosine méthylée (^mC) en thymine. En vert : site abasique. Les barres verticales représentent des cassures dans les simples brins d'ADN. R = purine Y = pyrimidine. D'après Orlando et al. 2015 (31)

L'ADN, en tant que support de l'information génétique des individus et des organismes, est l'objet d'étude essentiel pour connaître les populations et pathogènes du passé. Pour l'étudier il faut donc le séquencer, c'est-à-dire déterminer la succession linéaire des bases A, C,

G, T qui le compose. L'ADN ancien endogène c'est-à-dire appartenant à l'individu est cependant régulièrement noyé dans des quantités importantes d'ADN environnemental. Cette contamination se retrouve à des niveaux très aléatoires dans les pièces. Réussir à sélectionner l'ADN qui nous intéresse est un des challenges rencontrés en paléogénomique. (32)

2. Outils et techniques en paléogénomique

Si l'avènement de la paléogénomique eu lieu en 1984, par le séquençage d'un fragment d'ADN du quagga, une espèce de zèbre disparue, elle se développe surtout grâce à l'apparition de la Polymerase Chain Reaction, ou PCR (33) (34). Cette technique développée par Mullis en 1986, permet d'amplifier de l'ADN in vitro, donc d'obtenir un très grand nombre de copies de fragment d'ADN. Elle se déroule en 3 phases. Une première phase consiste à dénaturer la molécule d'ADN par une température de plus de 80°C qui ne permet pas le maintien des liaisons hydrogènes de la double hélice et va donc séparer les deux brins d'ADN. Lors de la seconde phase, des petites séquences d'ADN spécifiques de la séquence à amplifier sont introduites, la température est diminuée afin que les liaisons hydrogènes puissent se reformer et permettre l'hybridation des amorces à la molécule d'ADN. La troisième phase d'élongation consiste à synthétiser la molécule d'ADN complémentaire à partir des amorces. Pour cela, on utilise une enzyme ADN polymérase qui se fixe aux amorces et qui va utiliser un mélange d'oligonucléotides ajoutés dans la réaction pour répliquer la molécule d'ADN. Au cycle d'après, les néo molécules d'ADN sont à leur tour utilisées comme matrice pour une nouvelle réaction de PCR. En général, entre 20 à 40 cycles sont nécessaires pour obtenir un taux honnête d'ADN. Théoriquement, chaque cycle double la quantité d'ADN du cycle précédent². La force de la PCR réside sur le fait que la quantité d'ADN de départ n'est pas un facteur limitant et que nous pouvons amplifier des séquences à partir de quantité infinitésimale d'ADN. (34) (35) La PCR permet une reproduction à l'identique d'une séquence d'ADN et donc la rend détectable et lisible. (Figure 11) (1)

² n cycles de PCR permettent en théorie de produire 2ⁿ copies de la séquence ciblée (amplicon). Il est ainsi possible d'obtenir plus d'un million de copies en une vingtaine de cycles de PCR.

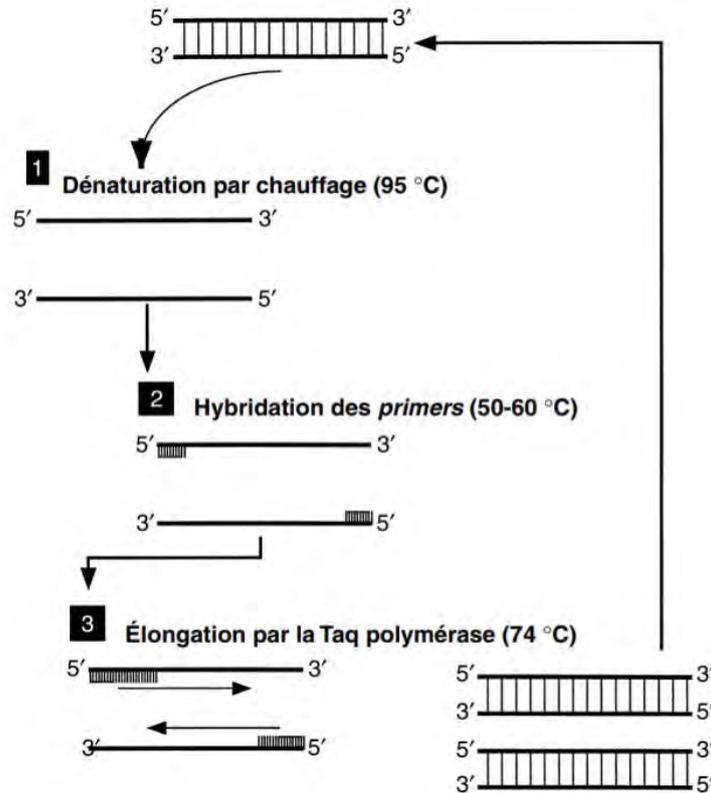


Figure 11 : Principe de l'amplification de l'ADN par PCR (28)

Derrière elle va être suivie d'une méthode de séquençage de l'ADN. Historiquement, deux méthodes sont arrivées simultanément à la fin des années 1970 : la méthode de Maxam-Gilbert et la méthode Sanger. Mais c'est rapidement cette dernière qui s'est principalement développée et reste encore aujourd'hui majoritairement utilisée en pratique clinique. Elle est basée sur le principe suivant, décrit par Lamoril et al. en 2008 : à partir de l'ADN amplifié puis dénaturé en simple brin, et à l'aide une amorce spécifique et complémentaire du brin étudié, une ADN polymérase effectue la synthèse de l'ADN complémentaire, en ajoutant de manière aléatoire et inconstante des didésoxyribonucléotides triphosphates (ddNTP) marqué à l'aide de 4 fluorophores différents (pour les 4 bases). Lorsqu'un ddNTP est ajouté, ne possédant pas de groupe hydroxyle en 3' qui permet la suite de la polymérisation, la réaction d'élongation s'arrête. En fin de réaction, on obtient des fragments de tailles différentes puisque statistiquement, au cours de la réaction, pour chaque base de l'ADN cible, un ddNTP marqué est ajouté au moins une fois à la place d'un dNTP. On procède ensuite à l'analyse de la réaction

par électrophorèse capillaire³ à l'aide d'un automate de séquençage. Lors de la migration, chaque fragment qui se termine par un ddNTP marqué par le fluorophore sera excité par un laser envoyant un signal analysé par un logiciel spécifique qui présentera la séquence étudiée sous la forme d'un électrophorégramme. (32)

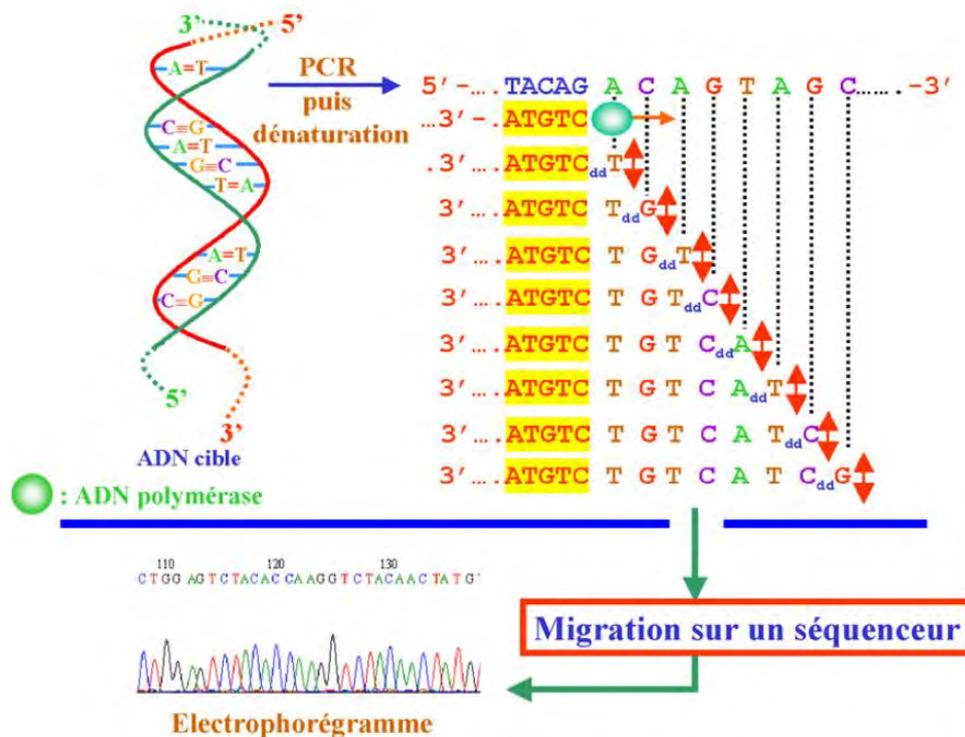


Figure 12 : Principe du séquençage selon la méthode Sanger (32)

En pratique, l'utilisation de la PCR dans la détection et l'analyse d'ADN ancien présente des écueils. Tout d'abord, une PCR fonctionne à son optimum sur des fragments d'ADN longs et bien préservés, soit à l'opposé de ce qui caractérise les fragments d'ADN ancien, et ne permet que de cloner des fragments de petite taille, rendant inaccessible le séquençage de génomes nucléaires humains ou bactériens complets (1) (37) (38). De plus, les échantillons d'ADN ancien requièrent un nombre élevé de cycle de PCR pour obtenir une amplification correcte, rendant la technique extrêmement sensible à la contamination par l'ADN moderne. De surcroît, la reproductibilité expérimentale est assez basse, les résultats étant difficiles à authentifier ou valider. (39) De fait, la PCR reste controversée pour les études d'ADN anciens notamment bactériens, amenant certaines études ayant identifié à partir de techniques PCR le pathogène

³ Electrophorèse capillaire : « technique d'analyse de composés en phase liquide (...) mise en œuvre au sein d'un capillaire de faible diamètre, rempli d'un électrolyte de séparation et requiert l'application d'un champ électrique. » (36)

Yersinia pestis dans des échantillons archéologiques à être débattues sur leur authenticité et leur reproductibilité. (39) (40) (41) (42) (43) (44)

Afin d'améliorer le rendement, de nouvelles machines ont permis de mettre au point la méthode shotgun, c'est-à-dire un séquençage aléatoire global. Cette technique consiste en une fragmentation du génome entier en petits fragments d'ADN qui sont ensuite chacun intégré au sein de bulles d'émulsion ou au sein de plasmides afin de créer une bibliothèque de fragments d'ADN simple brin. Ils sont ensuite amplifiés par PCR puis séquencés par la méthode Sanger. Cette technique permet la multiplication en parallèle de l'amplification et du séquençage. Ensuite, les séquences sont alignées et recoupées informatiquement par chevauchement. Beaucoup de séquences vont se chevaucher en bloc appelé « contig » et des trous (ou gap) de séquence apparaîtront. A l'aide d'amorce de PCR construites à partir des contigs, on amplifie en direction de ces trous puis on séquence pour les combler. Cette technique est majoritairement utilisée pour le séquençage de génomes de petite taille comme ceux des bactéries. Or, au niveau de l'ADN ancien, elle présente également une limite majeure : la plupart des fragments obtenus sont non identifiables soit car ils sont trop courts, soit car ils n'ont jamais été identifiés auparavant. (32) (38) (45)

Une autre piste d'optimisation du séquençage, a été de cibler la problématique la plus en amont possible et de chercher de nouveaux réservoirs à ADN pour définir lequel était le plus intéressant. Si les poils et les cheveux ont été le support de choix pour obtenir de l'ADN endogène par leur capacité à être décontaminés de l'ADN moderne sans impacter le matériel génétique qu'ils contiennent, c'est cependant l'os pétreux, extrêmement dense et très peu remanié au cours de la vie qui fournit la meilleure quantité d'ADN endogène. (46) (47) Parmi les tissus dentaires, régulièrement utilisés en raison leur préservation exceptionnelle au cours du temps, le ciment est également un tissu de choix pour analyser l'ADN endogène. Mais c'est la pulpe qui est bien le tissu le plus intéressant pour analyser l'ADN de pathogènes anciens. (48) (49) La protection fournie par les tissus minéralisés limite la détérioration de l'ADN qu'elle contient dans le temps et sa vascularisation permet la circulation des pathogènes par voie hématogène, à la différence de l'os pétreux. De plus, les infections aiguës n'induisent généralement pas de lésions osseuses à l'inverse des infections plus chroniques. Par conséquent si les infections ont été mortelles en phase aiguë, comme dans le cas d'individus issus de contextes épidémiques ne présentant pas de diagnostics paléopathologiques squelettiques d'infection, le matériel d'étude préférentiel est la pulpe dentaire. (24) La présence de la dent sur l'arcade ou incluse dans le tissu osseux, avec un apex édifié et sans contact avec le milieu

environnant sont des critères permettant de sélectionner les échantillons dentaires susceptibles de contenir de l'ADN relativement préservé. Pour recueillir la pulpe dentaire, plusieurs méthodes existent. La méthode par fracture longitudinale consiste à inciser la surface dentaire avec un disque diamanté stérile, puis de réaliser la fracture à l'aide d'un syndesmotome introduit dans le trait d'incision ; la pulpe est alors prélevée à l'aide d'une sonde dentaire. Dans la technique de recueil endocanalaire, l'utilisation d'une sonde endodontique stérile permet de prélever les tissus pulpaire après l'aménagement d'une voie d'accès coronaire. Enfin, la méthode par broyage de la totalité de la dent est la plus utilisée en paléogénomique. Quelle que soit la méthode choisie, il faut veiller à ne pas surchauffer l'échantillon dentaire au risque d'y léser l'ADN ancien qui s'y trouve. (50)

Ces conclusions permettent de cibler le choix des réservoirs en fonction de la problématique de l'étude, et donc de perfectionner l'extraction et l'analyse de l'ADN ancien. (38)

Mais c'est réellement à partir des années 2006, avec les séries d'innovations technologiques des entreprises telles que Roche 454 ou Illumina, que la paléogénomique fait un bond en avant en rentrant dans le « Next-Generation Sequencing (NGS) » : le séquençage plus rapide, plus complet, moins cher de l'ADN ancien. (38) (51) Le NGS regroupe à la fois une méthode de préparation des échantillons, de séquençage et d'analyse des données. Une des nouveautés apportées par le NGS consiste en la constitution de librairies en amont du séquençage : ce sont des constructions moléculaires où l'on va rajouter, à chaque fragment d'ADN cible, des adaptateurs. Ces morceaux d'ADN artificiels dont on connaît la séquence vont pouvoir être utilisés en achetant des amorces de PCR qui leur sont complémentaires pour lancer notre amplification. Il existe de nombreuses techniques de construction de librairies, mais trois sont régulièrement rencontrées en paléogénomique (37) (38) :

- Les librairies d'ADN double brin. Dans ce type de librairie, l'ADN ancien est d'abord réparé sur sa partie terminale. On va ensuite lui lier des adaptateurs double brin. La ligature produisant des trous au niveau de la jonction, les brins seront ensuite réparés dans l'optique d'obtenir une librairie double brin exempte de cassures simple brin. (Figure 13). Introduites à l'origine par Roche 454, ce type de librairies présente deux limites majeures. D'abord, comme la ligature de l'adaptateur est aléatoire, une partie des constructions ne contient pas les 2 adaptateurs et ne pourra pas être séquencée. Une autre limitation possible est la formation de dimères d'adaptateurs pendant la ligature ; s'ils sont amplifiés et séquencés, ces déchets diminuent la capacité de séquençage. (37)

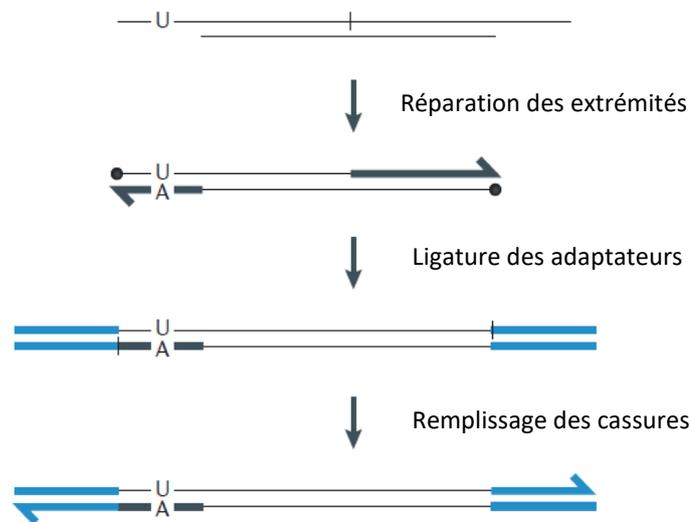


Figure 13 : Librairie ADN double brin. Les groupes phosphate en 5' sont représentés par des cercles noirs, les cassures d'ADN simple brin sont représentées par des barres verticales, les adaptateurs double brin en bleu. D'après Orlando et al. 2015 (37)

- Les librairies d'ADN double brin par le principe de ligature T/A. Pour construire ce type de librairie aussi appelée « A-tailed », l'ADN ancien est réparé à son extrémité terminale puis une adénine est ajoutée en 3' du brin pour faciliter la ligature suivante à des adaptateurs « T-tailed », tout en empêchant les ligatures entre paires d'adaptateurs. Les adaptateurs sont typiquement en forme de Y (c'est-à-dire qu'ils sont complémentaires à l'extrémité arrière en T mais ont des bras non complémentaires à l'autre extrémité). L'utilisation de tels adaptateurs non complémentaires distincts permet un séquençage unidirectionnel ultérieur le long du fragment. Les trous résultants de la ligature sont remplis par PCR post-ligature. (Figure 14) Cette stratégie de construction de librairie, proposée par Illumina, semble être peu optimisée pour l'ADN ancien, notamment car les échantillons débutant par des thymines sont traités moins efficacement pendant la ligature. Ainsi, la fraction, souvent importante en ADN ancien, de molécules contenant des résidus de cytosines désaminées (analogues de la thymine) à leurs extrémités terminales ne vont pas être comprises dans ces librairies. (37)

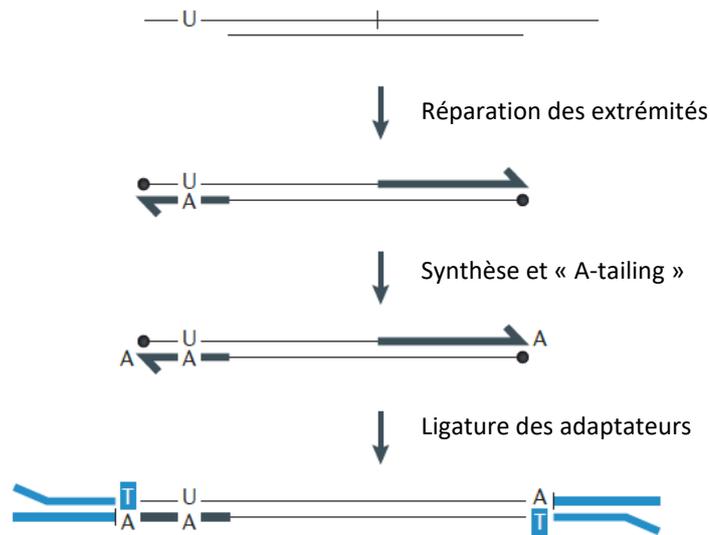


Figure 14 : Librairie ADN double brin par ligature T/A. Les groupes phosphate en 5' sont représentés par des cercles noirs, les cassures d'ADN simple brin sont représentées par des barres verticales, les adaptateurs double brin en bleu. D'après Orlando et al. 2015 (37)

- Les librairies ADN simple brin. Pour la construction de ce genre de librairies, l'ADN ancien est d'abord dénaturé en simple brin puis ligaturé à un premier adaptateur biotinylé simple brin avant d'être étendu par la Bst polymérase qui génère le brin complémentaire. Un second adaptateur est ligaturé à l'extrémité 3' du brin complémentaire pour permettre l'amplification et le séquençage futur. L'inclusion de biotine dans le premier adaptateur permet, grâce à son affinité avec la streptavidine recouvrant une bille paramagnétique, de réaliser une étape de purification avec une perte minimale d'ADN. (Figure 15) (37)

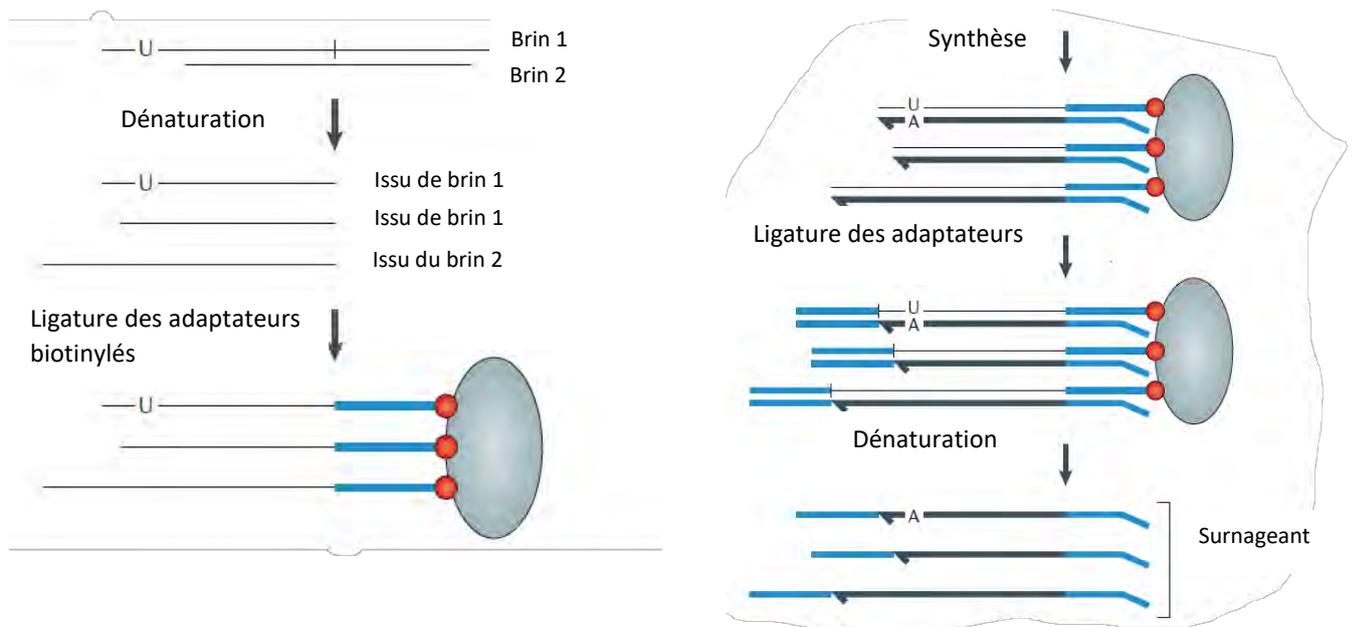


Figure 15 : Librairie ADN simple brin. Les groupes phosphate en 5' sont représentés par des cercles noirs, les cassures d'ADN simple brin sont représentées par des barres verticales, les adaptateurs en bleu, la biotine en rouge et la bille paramagnétique enrobée de streptavidine en gris. D'après Orlando et al., 2015 (37)

La construction de librairie et l'amplification PCR qui en résulte sont, toutes les deux, sources d'erreurs. Cependant, la constitution de librairies permet de mettre en place des techniques d'enrichissement, qui permettent de sélectionner certains fragments d'ADN d'intérêt. La méthode de capture en phase solide est une technique d'enrichissement régulièrement retrouvée en paléogénomique. Elle consiste à utiliser des sondes ciblant des éléments connus du génome cible. Cette technique est une alternative au séquençage shotgun et à la PCR en temps réel et peut permettre de screener plus de 100 pathogènes en parallèle. (52) Particulièrement appropriée pour identifier les pathogènes anciens qui laissent souvent très peu de traces sur le squelette, elle présente cependant des limites. En effet, la détection des régions très divergentes du génome est faible et certaines régions génomiques présentant de grands réarrangements (comme des insertions de longs fragments d'ADN) sont oubliées. Beaucoup la définissent comme une technique « d'appauvrissement » puisqu'on ne trouve dans le produit final que ce qu'on y a cherché en amont (37) (38).

À la suite de la construction de ces librairies, les fragments d'ADN sont amplifiés puis séquencés. Le NGS a permis le développement de différents types de séquençage mais le principe de base reste le même que pour la méthode Sanger : pour chaque nucléotide incorporé un signal est détecté par le séquenceur. C'est la nature du signal qui différencie les méthodes : signal lumineux pour le séquençage par synthèse d'Illumina et pour le pyroséquencage de

Roche 454, ou une variation de pH pour le séquençage par détection des ions H⁺ pour Proton Thermofisher. (53)

Ces innovations techniques ont permis de faire un bond en avant en la paléogénomique. Mais la possibilité de séquençage de génomes entiers pose un nouveau problème : la gestion des données. En effet, le génome humain étant composé de 3Gpb, son séquençage nécessite des serveurs informatiques susceptibles de lire et stocker ces données. Les données brutes sont des intensités lumineuses converties ensuite en données de séquençage : ce sont les données primaires. En fonction de l'échantillon, du génome de référence, la séquence va être alignée à l'aide d'algorithme : ce sont les données secondaires. Ce traitement post séquençage engendre une perte des données. La bioinformatique occupe une place essentielle en paléogénomique : si le séquençage permet de fournir un support de lecture, l'analyse informatique traduit ce support en données exploitables. Pour cela, de plus en plus de pipelines⁴ informatisés sont apparus : il s'agit d'algorithme de lecture permettant de répondre à une question posée. PALEOMIX, BLAST sont deux exemples de pipelines utilisés en paléogénomique des bactéries anciennes. (38)

Grâce au NGS, la paléogénomique a progressé de manière exponentielle au cours des dernières décennies. L'innovation technique, l'innovation informatique et la recherche de nouveaux réservoirs d'ADN ont permis d'adapter les protocoles pour répondre à une question anthropologique précise. Quels peuvent être les apports de la paléogénomique dans le cadre plus restreint de la discipline appliquée à l'étude des maladies infectieuses ?

3. Apports de la paléogénomique : l'exemple de la peste

Yersinia pestis, la bactérie responsable de la peste présentée en première partie de ce travail, est le pathogène le plus étudié en paléogénomique. L'utilisation de séquençage shotgun, de technique de capture en phase solide ou en solution suivi de séquençage NGS sur des échantillons de pulpe dentaire ont permis d'élargir la compréhension de l'émergence et de l'évolution des différentes épidémies de peste.

⁴ Le terme « pipeline » est communément admis dans la communauté scientifique pour décrire une succession de traitements automatiques du signal au travers d'une chaîne de logiciels et d'algorithmes. Il s'emploie dans de nombreux domaines, notamment en génomique, pour l'analyse des gènes humains et de leurs fonctions.

L'étude de l'ADN ancien permet de déduire que *Yersinia pestis* et *Yersinia pseudotuberculosis* auraient divergé entre 13 000 et 79 000 AP⁵. Les premières traces d'ADN de *Yersinia pestis* ont été retrouvés sur des restes humains datant du Néolithique et de l'âge de Bronze, suggérant la circulation de la maladie il y a 5 000 ans. (54) Les analyses génomiques démontrent que les bactéries datant de cette époque n'avaient pas acquis les facteurs de virulence qui permettent la réalisation du cycle de transmission de la bactérie : le gène *ymt* était notamment absent de ces souches, empêchant la colonisation par *Y. pestis* du système digestif de la puce. La transmission de *Yersinia pestis* par la puce étant nécessaire dans le développement de la peste bubonique, les analyses concluent que cette forme de la maladie n'était pas présente à ces périodes de l'histoire. La peste bubonique est en réalité associée à trois grandes épidémies historiques (55) :

- La peste de Justinien, qui débute en 541 et s'étend à travers l'Europe jusqu'en 750 environ. Les analyses phylogénétiques réalisées sur des génomes de *Y. pestis* issus de dents d'individus du sud de l'Allemagne dont la datation correspond à cette première épidémie montrent qu'il s'agit d'une lignée désormais éteinte cependant proche des lignées contemporaines chinoises, proposant une origine asiatique de la peste justinienne. Cette théorie est appuyée également par la publication de deux génomes de *Y. pestis* des actuelles montagnes du Kirghizstan, datés plus précocement du II^e et III^e siècle, qui partagent un ancêtre commun avec les génomes évoqués précédemment. Cependant, sans l'analyse de génomes issus du bassin Méditerranéen, région clef de l'entrée de la maladie en Europe, afin de s'affranchir des biais d'échantillonnage due à l'omniprésence du panel asiatique, cette théorie reste hypothétique. (56)
- La peste noire de 1347-1353, qui a décimé la population européenne d'environ 50% en 5 ans et dont les vagues ont continué jusqu'au XVIII^e siècle. (57) Si les analyses PCR ont suggéré deux phylogénies distinctes et ont émis l'hypothèse que cette épidémie tire son origine de plusieurs vagues indépendantes d'introduction en Europe, les analyses du génome entier de plusieurs localisations européennes différentes montrent un manque de diversité des lignées et concluent à une seule vague d'entrée de la maladie avec une diffusion rapide dans le continent. (55) (58) Une seconde lignée, désormais éteinte, issue de cette épidémie, serait à l'origine de la grande peste de Marseille (1720-1722) et aurait pu entretenir les vagues de peste jusqu'au XVIII^e siècle. (58) (59) (60)

⁵ AP : avant présent.

- La troisième et plus récente épidémie débute à la fin du XIXe siècle en Chine, elle est à l'origine de la découverte de l'agent infectieux par Alexandre E.J Yersin à Hong-Kong en 1894. Grâce à des techniques de capture utilisant des sondes créées à partir du génome de *Yersinia pseudotuberculosis*, Spyrou et al. en 2016 ont démontré que cette troisième épidémie avait pour origine les lignées européennes de l'épidémie de peste noire qui s'étaient alors dispersées vers l'Asie pour être à l'origine des épidémies plus contemporaines de peste. (58) L'épidémie s'est propagée via les routes maritimes et serait responsable de certaines épidémies comme celle de Madagascar.

Ainsi, la paléogénomique appliquée à l'infectiologie permet d'enrichir cette discipline de plusieurs manières (24) :

- D'abord en utilisant les pathogènes comme des fossiles moléculaires pour renseigner sur la chronologie des épidémies passées, au même titre que l'étude paléopathologique des ossements, l'analyse des sources historiques ou la microbiologie des lignées bactériennes contemporaines.
- Également en étudiant les relations évolutives au sein des espèces. On peut ainsi déterminer des phylogéographies microbiennes qui permettent de comprendre les différents processus qui influencent la diversité bactérienne à travers le temps et sa distribution spatiale. On peut également élucider les événements de transmission zoonotique ou anthroponotique, révélant des réseaux de maladies et leurs interactions dans le temps. Ces analyses sur l'évolution sont liées à la taille, à la qualité des échantillons ainsi qu'à leur distribution spatiale. Par conséquent les échantillons incomplets de l'ADN ancien et des lignées modernes microbiennes représentent un défi dans ces études diachroniques des relations inter-espèces.
- Enfin, l'étude des génomes des anciens pathogènes permet également de déduire les moments de divergence entre espèce grâce à la datation moléculaire. Le principe de l'horloge moléculaire allègue que l'évolution d'un génome a lieu en fonction du temps et que donc la distance génétique entre deux êtres vivants est proportionnelle à leur temps de divergence. Donc en datant les génomes à l'aide des artefacts archéologiques, de la datation radiocarbone ou des informations contextuelles on peut faire des déductions sur les différents timings de divergence.

La paléogénomique présente cependant plusieurs limites. D'abord la contamination de l'ADN ancien par l'ADN moderne est une préoccupation présente à toutes les étapes : lors des manipulations de laboratoire (des manipulateurs, des réactifs, d'un échantillon à l'autre), lors des fouilles par l'ADN humain des fouilleurs, mais aussi par la contamination intrinsèque (bactéries du sol, de la décomposition, présence d'animaux ou d'autres humains dans la tombe). Elle peut être limitée des contrôles expérimentaux où un témoin négatif est rajouté à chaque étape de la préparation des pièces. Elle peut être écartée des analyses en exploitant moléculairement ou informatiquement les altérations post-mortem de l'ADN comme moyen d'authentification et de ciblage des molécules anciennes. Mais la contamination sera toujours présente en paléogénomique et doit être systématiquement quantifier au sein des publications. (38) Ces contaminations, et la fragilité de la molécule d'ADN, rend les échantillons les plus anciens hors de portée des séquenceurs.

Depuis plusieurs années émerge un nouveau champ d'expertise : la protéomique appliquée aux restes anciens. L'étude des protéines et des protéomes anciens fournit déjà des résultats très encourageants.

III. PALEOPROTEOMIQUE ET PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE.

1. De l'ADN à la protéine

L'étape de traduction de la molécule d'ARN en acides aminés fait suite à l'étape de transcription de la molécule d'ADN en molécule d'ARN dans le noyau. Les acides aminés sont des motifs élémentaires, qui diffèrent entre eux par leur chaîne latérale, et qui sont reliés entre eux par des liaisons peptidiques constituant un enchaînement à l'origine de la structure primaire des protéines. (Figure 16) Ils sont au nombre de 22 et comprennent l'alanine, l'arginine, l'asparagine, l'aspartate, la cystéine, le glutamate, la glutamine, la glycine, l'histidine, l'isoleucine, la leucine, la lysine, la méthionine, la phénylalanine, la proline, la pyrrolysine, la sérine, la sélénocystéine, la thréonine, le tryptophane, la tyrosine et la valine. (Annexe 2) (29)

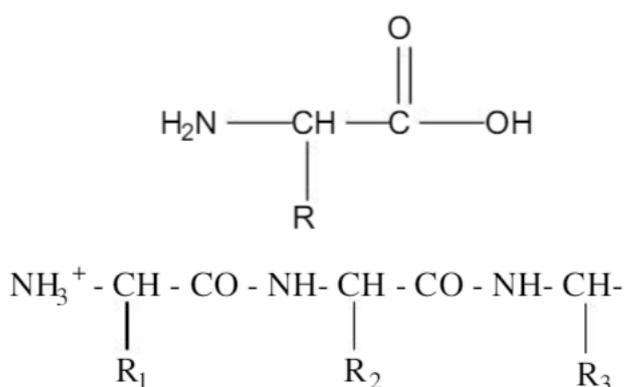


Figure 16 : Formule générale d'un acide aminé. R représente la chaîne latérale qui varie selon l'acide aminé. (en haut) Chaîne polypeptidique formant la séquence de la protéine, ou structure primaire. (en bas) (29)

La structure des acides aminés est telle que ses groupes carboxylique -COOH et aminé -NH₂ ont la possibilité de gagner (-COO⁻ + H⁺ → -COOH ou -NH₂ + H⁺ → -NH₃⁺) ou perdre un proton (-COOH → -COO⁻ + H⁺ ou -NH₃⁺ → -NH₂ + H⁺). En solution neutre, les acides aminés sont dipolaires, c'est-à-dire que leurs groupes carboxylique et aminé sont chargés (-COO⁻ et -NH₃⁺). Le pK, ou potentiel de dissociation, des groupes carboxyliques est d'environ 3-4, celui des groupes aminés est de l'ordre de 10. La demie-somme des pK permet de calculer le point isoélectrique, ce qui correspond à la neutralité globale de la molécule. Si la chaîne latérale d'un

acide aminé est ionisable, elle va participer à la valeur du point isoélectrique de l'acide aminé. Donc lorsque le pH environnant varie, l'état d'ionisation des acides aminés va également varier. Ce caractère amphotère des acides aminés est utilisé dans le principe de l'électrophorèse. Il est également responsable de la capacité des acides aminés à être solubles dans des solvants polaires, tel que l'eau, et peu ou insoluble dans les solvants apolaires ; propriété utilisée dans le principe de la chromatographie de partage. (29)

La séquence d'acides aminés est unique pour chaque protéine et est donc déterminée par le gène qui code la protéine. Leur agencement dans la chaîne polypeptidique détermine la structure et la spécificité fonctionnelle de la protéine. En effet, participant à toutes les activités biologiques, les protéines sont des molécules à l'origine d'une grande variété de fonctions : catalytique et participation au métabolisme pour les enzymes, transport et transduction de signaux pour certaines protéines comme l'hémoglobine, contraction musculaire, mais également immunitaire pour les anticorps. (29)

En post-mortem, du fait de leurs propriétés physiques et chimiques, les protéines sont plus résistantes à la dégradation que l'ADN. Pourtant, elles subissent quand même des altérations de leur séquence selon des schémas connus. On retrouve notamment des désamidations de la glutamine et de l'asparagine, des (di)oxydations de la méthionine et du tryptophane, la formation d'acide pyroglutamique ainsi que des fragmentations de peptides. (61) Les protéines collagéniques sont les plus résistantes à la dégradation post-mortem, suivies par des protéines non collagéniques comme l'albumine sérique et les protéines couramment rencontrées dans le sang ou le sérum. (62)

Les premières identifications des acides aminés remontent au XIXe siècle, posant les jalons de ce qui deviendra plus tard la protéomique. Depuis, les progrès réalisés en physique et en chimie, ont permis de développer les méthodes d'identification, de purification des protéines et de détermination de la séquence.

1. Identification des protéines anciennes

En protéomique, il existe plusieurs méthodes de séparation des acides aminés dans l'optique de les identifier : l'électrophorèse, la chromatographie et la spectrométrie de masse.

L'électrophorèse est une méthode consistant à appliquer un champ électrique à un mélange moléculaire afin de séparer les molécules d'après leur charge. Or, lorsqu'ils sont soumis à un champ électrique, la charge nette des acides aminés n'étant jamais nulle (en dehors de leur point

isoélectrique), ils migrent vers l'électrode de polarité opposée. Comme leur pK et leur point isoélectrique diffèrent entre les acides aminés, leur charge également. Ainsi, placé dans un champ électrique, la mobilité des acides aminés sera fonction du pH et se distinguera d'un acide aminé à l'autre. L'électrophorèse nécessite un support, généralement solide, comme le gel de polacrylamide (PAGE). Puis les acides aminés sont révélés à l'aide d'une coloration à la ninhydrine. (29)

La chromatographie est une technique datant de la fin du XIXe siècle et qui peut être de deux sortes : la chromatographie de partage ou la chromatographie sur échangeur d'ions. Le principe de la chromatographie de partage repose sur une migration différentielle dans deux phases liquides non miscibles des molécules que l'on cherche à séparer. Les acides aminés, amphotères, ont une bonne solubilité dans l'eau, et une faible solubilité dans les solvants organiques qui augmentera d'autant plus que la chaîne latérale de l'acide aminé sera apolaire. Il y aura donc un partage entre la phase mobile et la phase aqueuse, généralement fixée sur support solide comme le papier ou des couches minces de silices et considérée comme stationnaire.

La chromatographie sur échangeur d'ions se réalise en phase liquide et isole une substance chargée électriquement dans un mélange de molécule. Pour isoler des acides aminés, dont les groupes chargés forment des liaisons avec les ions de charge opposée, on utilise des ions sous la forme d'un réseau solide insoluble dans le solvant, créant une fixation réversible des acides aminés. Généralement les chromatographies sur échangeur d'ions se présentent sous la forme de colonnes de polystyrène sulfoné, sur lesquelles sont ajoutées des résines composées de groupements ionisables capables d'échanger certains de leurs ions, au travers de laquelle s'écoule le solvant. Le mélange d'acide aminés se fixe sur la colonne, puis va en être séparé par élution en élevant la force ionique ou le pH ou les deux. Les résines échangeuses d'ions peuvent être le diméthylaminoéthyl (DEAE), la cellulose, le carboxyméthyl (CM). (29)

La spectrométrie de masse consiste à utiliser un flux électronique pour ioniser des molécules sous vide et éventuellement les fragmenter et ioniser ces fragments obtenus. On les place alors dans un champ électrique qui les conduit, en fonction du rapport de leur masse et de leur charge, vers un détecteur très précis qui fournira des informations sur leur masse et leur structure, à l'unité près. Elle permet également de déterminer la séquence des protéines grâce à la protéolyse enzymatique qui permet d'obtenir des polypeptides puis par la fragmentation de chaque acide aminé au niveau des liaisons peptidiques. (29) D'importants progrès ont été réalisés ces dernières années en spectrométrie de masse, certaines méthodes étant retrouvées

fréquemment en paléoprotéomique. Notons par exemple la méthode MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionisation) où les molécules étudiées sont adsorbées sur une matrice organique, puis désorbent du support après application d'un rayonnement laser, provoquant l'ionisation de ces composés en diminuant la fragmentation de la molécule étudiée. Cette méthode peut être améliorée par l'introduction d'un analyseur de temps de vol vers le détecteur : MALDI-TOF (Time Of Flight). (63) L'utilisation du ZooMS (Zooarchaeology by Mass Spectrometry) est également courante en paléoprotéomique. Son principe repose sur l'utilisation du collagène pour identifier les espèces duquel il provient (64). Le couplage de la chromatographie et de la spectrométrie de masse (LC-MS/MS) est la méthode la plus utilisée en paléoprotéomique, particulièrement lors de l'étude des pathogènes anciens notamment en raison de sa grande sensibilité. (65)

Si l'étude des protéines est plus ancienne que les débuts de la génomique, son application aux restes humains anciens est en revanche beaucoup plus récente et novatrice. La paléoprotéomique va donc appliquer la spectrométrie de masse à l'étude des protéomes. Devant les balbutiements d'une discipline à l'intersection de beaucoup de domaines, comme l'archéologie, l'anthropologie, la biologie de l'évolution, et faisant le constat d'une absence de consensus ou de lignes directrices à l'inverse de ce qui a pu être produit en paléogénomique (66), Hendy et al. proposent en 2018 un « Guide d'étude des protéines anciennes », où ils suggèrent un ensemble de pratiques standardisées. Ainsi pour éviter la disparité entre les protocoles pour authentifier les protéines et proposer des mesures concrètes pour augmenter l'identification de protéines endogènes, chaque étape d'une étude paléoprotéomique est passée au crible. (Figure 17)

D'abord au moment de la sélection des échantillons, l'attention doit être portée sur un maximum de préservation des échantillons. La paléoprotéomique permet d'utiliser de nombreux types d'échantillons comme supports de recherche : os, émail, dentine, pulpe dentaire bien sûr, mais également des échantillons non conventionnels tels que : les coquilles d'œuf, le textile et le cuir, les poteries ou encore de la peau et des tissus mous. Ces échantillons, du fait de leur rareté, les rendent extrêmement précieux et les méthodes non destructives doivent être envisagées au maximum. Quand elles ne sont pas possibles, il faut au maximum réduire la taille de l'échantillon. Le choix de l'échantillon devra aussi tenir compte de la diagénèse⁶ qui va diminuer la quantité de protéines endogènes, augmenter la dégradation de ces dernières et

⁶ Diagénèse : série de transformations physiques ou chimiques de composés organiques ou inorganiques au cours du temps.

permettent la colonisation par des protéines exogènes. Ainsi les peptides seront mieux préservés dans les échantillons minéraux comme les os ou le tartre dentaire (3) ou dans les systèmes plutôt fermés, comme la pulpe. Dans le cas des échantillons issus de collections de musée, il faut faire attention à l'utilisation de colles qui peuvent introduire des protéines modernes dans les analyses spectrométriques. Pour les mêmes raisons, les gants en latex ne doivent pas être utilisés.

Ensuite, au niveau de la préparation des échantillons en laboratoire, les précautions prises doivent être décrites dans les publications. Le plus important, est de réaliser des extractions témoin c'est-à-dire réaliser des extractions protéiques sur des tubes vides afin de qualifier la contamination protéique. En effet, bien que les techniques d'analyse protéomique soient beaucoup moins sujettes à la contamination qu'en paléogénomique il y a certaines sources de contamination qui doivent être prises en compte. (62) Au niveau de l'équipement du manipulateur, il doit porter des vêtements en coton ou synthétique, pas de laine, de fourrure, de soie ou de cuir, couvrir toutes les parties de son corps exposées et porter des gants en matière non-latex. Les surfaces et les équipements doivent être propres, éventuellement javellisées. Concernant les réactifs utilisés, ils doivent être purs et non à base de protéine : l'albumine de sérum bovin, très utilisé en biologie, doit être écarté. Il faut éviter également la réutilisation des consommables. Le plus efficace pour éviter les contaminations par des protéines modernes est d'utiliser des salles blanches comme pour les analyses d'ADN ancien, séparées des salles d'analyse de protéines modernes et spécifiquement dédiées aux protéines anciennes. Pour la décontamination des échantillons, trop peu d'études se penchant sur le bénéfice qu'elle amène dans l'étude des protéines anciennes ont été réalisées pour permettre d'établir un consensus. (62)

Concernant l'étape de l'analyse en spectrométrie de masse en elle-même, les paramètres des instruments, comme le type de colonne utilisé dans le cas d'une chromatographie, ou la composition de l'élution de peptides de précédents passages chromatographiques sur la même colonne doivent être renseignés. Entre chaque échantillon, une solution tampon doit être utilisée afin de laver la colonne et doit être analysée également : les peptides les plus résistants au temps dans les échantillons archéologiques et paléontologiques sont ceux qui sont le plus susceptibles d'adhérer aux colonnes de chromatographie. La réplication de l'expérimentation est également un aspect majeur de l'étude, soit en faisant une nouvelle extraction protéique du même échantillon soit en faisant une nouvelle analyse spectrométrique de la même extraction

protéique. Néanmoins, cette étape peut être difficile à intégrer dans une étude compte-tenu de la volonté de préservation des échantillons.

Faisant suite à l'étape de spectrométrie de masse, l'interprétation des données permet d'identifier les peptides et donc par la suite les protéines. Les études doivent donc fournir des données telles que le PSM (Peptide spectrum matches), score du nombre total de spectres de peptides identifiés correspondant à une protéine, ou le type d'algorithme utilisé pour conduire ces recherches (Mascot, Sequest par exemple). L'identification d'une protéine doit se faire sur la base de deux peptides reconnaissables et les données doivent être accessibles. Les données utilisées pour l'identification des protéines selon des séquences de références doivent être appropriée pour éviter les mauvaises identifications de protéines notamment lorsque ces bases de données sont restreintes.

Il faut ensuite authentifier et valider ces résultats. Comme en paléogénomique, la modification des protéines au cours du temps peut être utilisée comme un outil d'authentification des protéines anciennes ou comme un outil de discrimination des protéines anciennes et de la contamination par des protéines modernes.

La conservation à long terme des données brutes est nécessaire et doit être accessible au public comme via des référentiels publics tels que ProteomeXchange. (61)

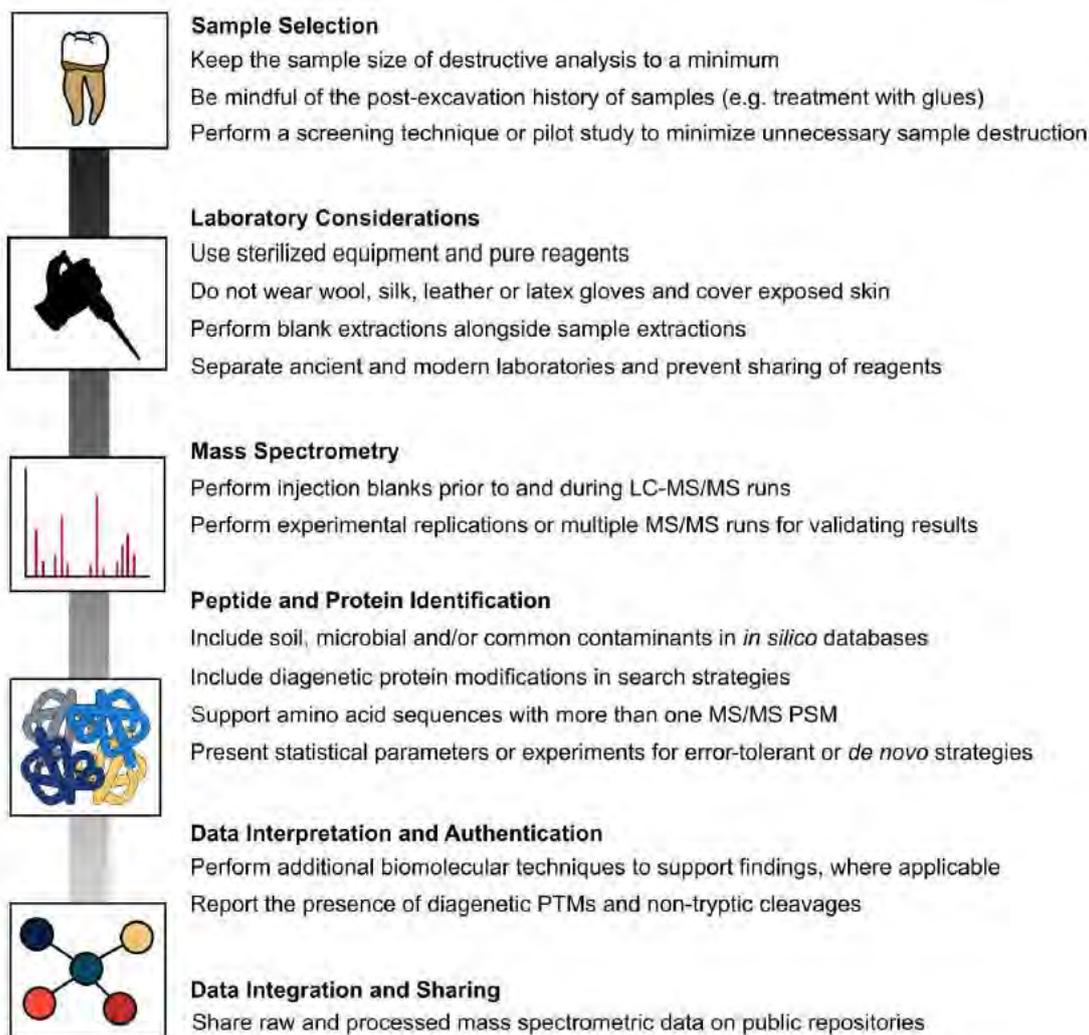


Figure 167 : Aspects importants lors d'une analyse paléoprotéomique (61)

Grâce à ces avantages sur la paléogénomique, comme la possibilité d'étudier des protéines sur des temps plus anciens que l'ADN, et par sa meilleure tolérance à la contamination, tout en utilisant les mêmes types de réservoirs, la paléoprotéomique a donc un potentiel intéressant dans l'étude de pathogènes anciens sur la pulpe dentaire.

2. Une discipline jeune mais prometteuse

En raison de son application aux pathogènes anciens plus récente que pour la paléogénomique, la paléoprotéomique est moins riche en publication. Elle propose cependant des résultats intéressants notamment à travers l'étude de *Yersinia pestis*.

Barbieri et al. en 2017, ont réussi à mettre en évidence la présence de *Yersinia pestis* dans la pulpe dentaire d'individus enterrés au XVIIIe siècle. L'utilisation de la LC-MS/MS a permis de détecter un ensemble de protéines sériques mais également 4 peptides provenant de 3 individus différents qui présentent une identité 100% compatible avec plusieurs espèces de *Yersinia*. Cette étude est une avancée majeure car elle permet de démontrer que la pulpe dentaire est également un support de choix dans la détection des protéines anciennes. (67)

Bianucci et al. en 2008, se servent d'une méthode peu commune pour identifier la présence de *Yersinia pestis* : le RDT (Rapid Detection Test) qui consiste en une immunochromatographie verticale en une étape qui utilisent deux anticorps anti-F1, un antigène présent au niveau de la paroi cellulaire de la bactérie. Ils utilisent désormais ce test rapide comme examen de routine sur des échantillons archéologiques issus de potentielles nécropoles d'épidémie de peste. (68)

(69)

Ces deux études suggèrent que la détection des protéines sériques pourrait permettre la détection d'immunoglobulines et d'étudier à la fois le pathogène et la réponse immunitaire de l'hôte. (67)

Cette hypothèse avait déjà été testée sur des échantillons buccaux provenant de momies des Andes datant de 500 ans et atteintes de tuberculose. L'utilisation de la LC-MS/MS révèle la présence de nombreuses protéines provenant des granules des polynucléaires neutrophiles et dont les résultats sont compatibles avec un processus infectieux actif par *Mycobacterium tuberculosis*, qui parfois persiste longtemps sans causer d'infection. (70)

D'autres études se sont servies de la paléoprotéomique pour explorer des spécimens beaucoup plus anciens à travers d'autres échantillons que la pulpe et repoussent les limites de la discipline. En 2016, l'analyse au ZooMS puis par LC-MS/MS de restes osseux donne des preuves moléculaires de la présence de Neandertal dans la Grotte du Renne. (71) Cappellini et al. en 2012, réussissent l'exploit d'utiliser la LC-MS/MS pour déterminer la séquence de 126 protéines d'un fémur de *Mammuthus primigenius* (Mammouth laineux) de 43 000 ans préservé dans le permafrost sibérien. (72)

Si l'ADN le plus ancien jamais séquencé date de 700 000 ans, la protéine endogène la plus ancienne jamais séquencée date elle, de 80 millions d'années, faisant de la paléoprotéomique une discipline très prometteuse. (73) (74)

Tout comme la paléogénomique, elle présente cependant des limites telles que les problématiques liées à la contamination et les difficultés d'authentification des résultats. C'est un champ de recherche encore récent et qui attend des progrès en bioinformatique pour se déployer.

CONCLUSION

La pulpe de la dent est un tissu conjonctif hautement vascularisé et protégé par l'émail et la dentine, deux types de tissus minéralisés peu remaniés en post-mortem. Sa structure en fait un tissu qui peut être considéré comme un extrait sanguin témoignant de la présence de bactéries ou de virus dans la circulation systémique. Elle peut alors être utilisée comme un échantillon biologique support de techniques de détection de maladies infectieuses.

La paléogénomique utilise de nombreuses techniques d'amplification et de séquençage des molécules d'ADN. En raison du caractère précieux des échantillons anciens et du coût de ces techniques, la sélection du réservoir à ADN le plus adapté est primordial. Dans le cas de la recherche de paléopathologies infectieuses, la pulpe dentaire dispose à la fois d'une concentration d'ADN endogène importante, d'une protection des contaminations par les tissus durs de la dent, et la possibilité d'y trouver des pathogènes de la circulation systémique. L'ère du NGS a permis le développement de bibliothèques, qui servent notamment de support aux différentes techniques d'enrichissement. La capture est particulièrement pertinente dans l'étude des pathogènes anciens. Cependant l'étude de l'ADN ancien présente de nombreuses limites liées à la fragilité de la molécule d'ADN et à sa sensibilité à la contamination.

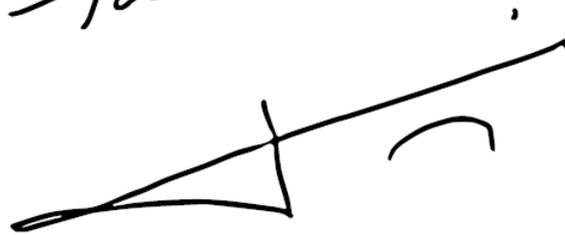
La paléoprotéomique propose d'identifier les pathogènes par des marqueurs protéiques à l'aide de la spectrométrie de masse. La discipline est encore jeune mais présente beaucoup de résultats intéressants. Les techniques d'identifications protéiques sont bien moins sensibles à la contamination, bien qu'elle soit présente et doit être prise en compte. De plus, les protéines résistent mieux que l'ADN à l'épreuve du temps ouvrant la porte à des possibilités de recherche sur des échantillons plus anciens.

A travers l'étude d'*Yersinia pestis*, nous avons pu constater à quel point les techniques de biologie moléculaire peuvent enrichir les connaissances historiques et archéologiques des épidémies du passé, et de la paléopathologie en général. La peste, par sa mortalité exceptionnelle, offre de nombreux échantillons d'étude aux équipes de recherche. Mais d'autres maladies infectieuses comme la tuberculose commencent à être largement documentées.

La paléogénomique et la paléoprotéomique sont deux disciplines dont le développement rapide a permis la baisse des coûts des recherches. Ce contexte doit permettre la multiplication de ce type d'analyse, en misant sur des collaborations pluridisciplinaires, pierre angulaire de l'anthropobiologie. Les pistes de recherche dans le domaine sont nombreuses : que ce soit en

approfondissant les connaissances sur d'autres épidémies, en documentant les réponses immunitaires de l'hôte à un agent infectieux pour comprendre les co-évolutions pathogènes-hôte, ou en améliorant la récupération des données ADN et protéiques lors de la gestion des échantillons, la paléopathologie de la pulpe dentaire, en se tournant vers le passé, est un axe de recherche d'avenir.

Avis favorable
Toulouse le 24/11/21

A stylized handwritten signature consisting of a long horizontal line with a vertical stroke intersecting it, and a small curved mark to the right.

B. M. Sixou

ANNEXES

Annexe 1 : Principales maladies infectieuses humaines d'origine bactérienne (16)

Maladies	Bactéries	Cibles	Symptômes et signes	Transmission
Maladies transmises par les animaux				
Charbon	<i>Bacillus anthracis</i>	Peau, intestin, poumons	Forme cutanée : pustule, fièvre, hémorragies, choc septique. Forme gastro-intestinale : fièvre, vomissement, nausées. Forme pulmonaire : bronchopneumonie foudroyante.	Bétail
Brucellose (fièvre de Malte)	<i>Brucella melitensis</i>	Ganglions, foie, rate, moelle osseuse	Fièvre, malaise, anorexie, céphalée, myalgie. Forme ondulante : fièvre ondulante, arthrite, symptômes neurologiques. Forme chronique : fatigue, dépression, arthrite.	Bétail Lait
Psittacose (ornithose)	<i>Chlamydia psittaci</i>	Foie, rate, poumons	Fièvre, hémorragie, pneumonie. Complications cardiaques, hépatiques, neurologiques.	Oiseaux
Fièvre Q	<i>Coxiella burnetii</i>	Multiples	Céphalée, malaise, confusion, maux de gorge, frissons, sueurs, nausée, myalgies, fièvre, pneumonie. Complications cardiaques, hépatiques.	Bétail Lait
Tularémie	<i>Francisella tularensis</i>	Ganglions, poumons, rate, foie, reins	Fièvre, céphalée, myalgies, arthralgies, adénopathie, pneumopathie, sepsis.	Contact direct, animaux, tique, taon, moustique, air, aliments, eau
Maladies opportunistes				
Vaginose	<i>Gardnerella vaginalis</i> <i>Mobiluncus</i> sp.	Vagin	Pertes, douleurs, avortement spontané, inflammations pelviennes.	Microbiote résident
Carie dentaire	<i>Streptococcus gordonii</i> , <i>S. orale</i> , <i>S. mitis</i> , <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>A. naeslundii</i>	Dent	Plaque dentaire, cavité dentaire, mort de la dent.	Microbiote résident
Parodontopathie	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	Parodonte	Plaque sous-gingivale, parodontite, abcès, parodontose, gingivite, nécrose tissulaire.	Microbiote résident

N.B. Liste non exhaustive des espèces bactériennes responsables, des organes cibles et des signes cliniques.

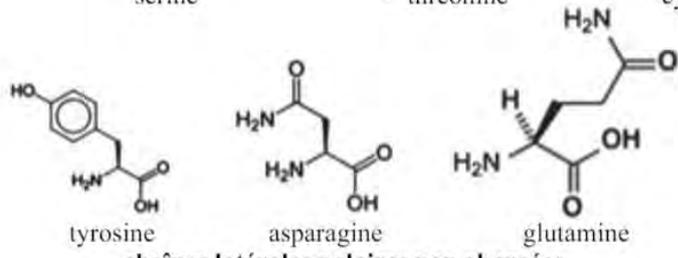
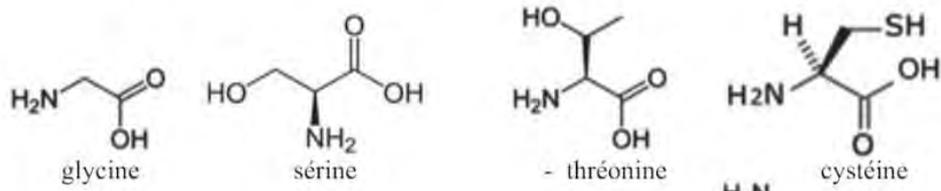
Maladies	Bactéries	Cibles	Symptômes et signes	Transmission
Maladies sexuellement transmissibles				
Syphilis	<i>Treponema pallidum</i>	Peau, os, système nerveux	Stade I : chancre. Stade II : éruption cutanée, fièvre, alopecie, malaise. Stade III : gommès, retard mental, cécité, tabes, démence.	Interhumaine
Blennorragie	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Voies génito-urinaires, yeux, gorge, rectum	Chez l'homme : urétrite aiguë. Chez la femme : cervicite. Chez le nouveau-né : ophtalmie. Pharyngite, rectite.	Interhumaine
Urétrite non gonococcique	<i>Chlamydia trachomatis</i> <i>Ureaplasma urealyticum</i> <i>Mycoplasma hominis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i>	Voies génito-urinaires, voies respiratoires, yeux	Chez l'homme : urétrite aiguë ou subaiguë. Chez la femme : cystite, vulvo-vaginite, cervicite, avortement spontané. Conjonctivite et pneumonie de l'enfant.	Interhumaine
Maladies transmises par les aliments et l'eau ou par voie oro-fécale				
Shigellose	<i>Shigella flexneri</i> <i>Shigella dysenteriae</i> <i>Shigella sonnei</i>	Tractus gastro-intestinal	Diarrhée aqueuse, selles mucopurulentes et sanglantes, crampes, nausées, vomissement, fièvre, ténésme, déshydratation, ulcération mucosale. Complications neurologiques, défaillance rénale.	Interhumaine, aliments, eau
Gastroentérite à <i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i> entérotoxigènes	Tractus gastro-intestinal	Diarrhée aqueuse non sanglante.	Interhumaine, aliments, eau
	<i>E. coli</i> entéro-invasifs		Dysenterie bacillaire, fièvre, crampes, ulcération intestinale.	
	<i>E. coli</i> entéropathogènes		Diarrhée liquide aiguë, lésions d'attachement/effacement.	
	<i>E. coli</i> entéro-agrégatifs		Diarrhée liquide persistante, lésions d'attachement/effacement.	
	<i>E. coli</i> à adhésion diffuse		Diarrhée infantile, cystite, pyélonéphrites, colite hémorragique, crampes abdominales.	
	<i>E. coli</i> entéro-hémorragiques	Diarrhée sanglante. Associée au syndrome urémique hémolytique, choc septique		
Gastroentérite à <i>Campylobacter</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Tractus gastro-intestinal	Diarrhée sanglante, fièvre, ulcération intestinale. Associée au syndrome de Guillain-Barré.	Aliments, eau

Maladies	Bactéries	Cibles	Symptômes et signes	Transmission
Maladies transmises par les aliments et l'eau ou par voie oro-fécale (suite)				
Choléra	<i>Vibrio cholerae</i>	Tractus gastro-intestinal	Diarrhée aqueuse, vomissement, crampes, déshydratation, état de choc.	Interhumaine, aliments, eau
Salmonellose	<i>Salmonella enterica</i>	Tractus gastro-intestinal	Crampes, diarrhée, nausée, vomissement, fièvre.	Aliments, eau
Intoxication staphylococcique	<i>Staphylococcus aureus</i>	Tractus gastro-intestinal	Crampes, diarrhée, nausées, vomissement.	Aliments
Botulisme	<i>Clostridium botulinum</i>	Système nerveux	Diplopie, dysphagie, dysphonie, faiblesse musculaire, nausées, paralysie flasque, défaillance respiratoire ou cardiaque.	Conservés
Colite associée aux antibiotiques	<i>Clostridium difficile</i>	Intestin	Diarrhée aqueuse, fièvre, nausées, crampes, colite pseudomembraneuse.	Interhumaine
Listériose	<i>Listeria monocytogenes</i>	Système nerveux central	Gastro-entérite fébrile, méningite, fièvre, convulsions, rhombencéphalite.	Aliments
Yersiniose	<i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Tractus gastro-intestinal	Entérite, entérocolite, fièvre, selles aqueuses, lymphadénite mésentérique aiguë, arthrite, érythème noueux.	Aliments, eau, animaux
Maladies transmises par les arthropodes				
Peste	<i>Yersinia pestis</i>	Voies lymphatiques, poumons	Hémorragies sous-cutanées, fièvre, céphalée, fatigue, bubons, lymphadénite, sepsis, pneumonie.	Puce, aérosol
Maladie de Lyme	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Cœur, articulations, système nerveux	Lésions cutanées, malaise, fatigue, céphalée, fièvre, anomalies neurologiques, inflammation cardiaque, arthrite.	Tique
Fièvre pourprée des Montagnes Rocheuses	<i>Rickettsia rickettsii</i>	Vaisseaux sanguins, système nerveux	Vascularite, éruption maculo-papuleuse, céphalée, fièvre, érythème, complications neurologiques.	Tique
Typhus exanthématique	<i>Rickettsia prowazekii</i>	Vaisseaux sanguins, système nerveux	Fièvre, céphalée, éruption cutanée, complications neurologiques, tufos, délire.	Pou
Typhus murin	<i>Rickettsia typhi</i>	Vaisseaux sanguins, système nerveux	Fièvre, céphalée, éruption cutanée, complications neurologiques, tufos, délire.	Puce

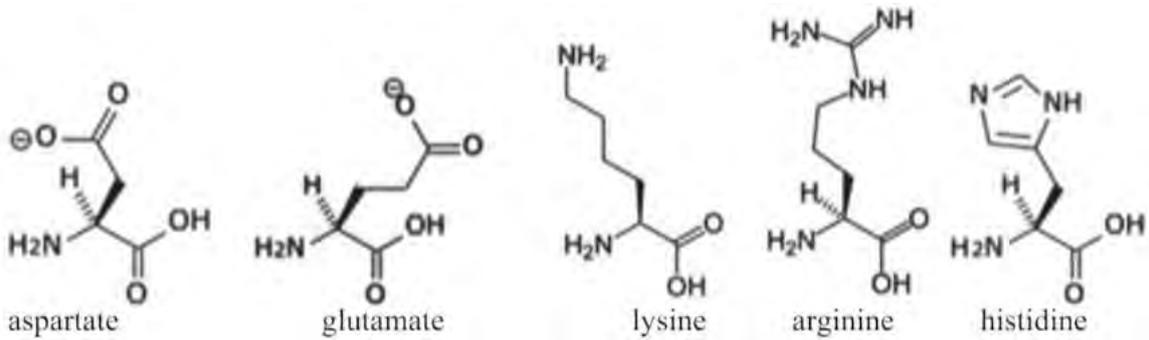
Maladies	Bactéries	Cibles	Symptômes et signes	Transmission
Maladies transmises par l'air				
Tuberculose	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Poumon	Toux, fièvre, perte de poids, fatigue. Formes disséminées : infection urinaire, osseuse, ganglionnaire, cutanée, méningée.	Interhumaine
Coqueluche	<i>Bordetella pertussis</i>	Voies respiratoires	Toux spasmodique, fièvre, malaise, cyanose.	Interhumaine
Diphthérie	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Voies respiratoires	Pharyngite, amygdalite à pseudomembranes, fièvre, toux. Complications : neuropathie, paralysie, myocardite, néphrite.	Interhumaine
Angine à streptocoques	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Voies respiratoires	Pharyngite, fièvre, céphalée, scarlatine. Complications : glomérulonéphrite, endocardite, rhumatisme articulaire aigu.	Interhumaine
Pneumonie à streptocoques	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Voies respiratoires	Toux, fièvre, pneumonie, sepsis. Associée à la sinusite, conjonctivite, otite, méningite.	Interhumaine
Légionellose	<i>Legionella pneumophila</i>	Voies respiratoires	Toux, fièvre, céphalée, diarrhée, confusion, bronchopneumonie.	Aérosol
Méningite à méningocoques	<i>Neisseria meningitidis</i>	Méninges	Maux de gorge, fièvre, raideur de la nuque et du cou, vomissement, céphalée, sepsis, convulsions, léthargie, confusion.	Interhumaine

Maladies	Bactéries	Cibles	Symptômes et signes	Transmission
Maladies transmises par l'air (suite)				
Méningite à <i>Haemophilus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	Voies respiratoires, méninges	Maux de gorge, fièvre, épiglottite, pneumonie, raideur du cou, vomissement, céphalée, léthargie, confusion.	Interhumaine
Pneumonie à chlamydias	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Voies respiratoires	Toux, fièvre, pharyngite, bronchite, sinusite.	Interhumaine
Pneumonie à mycoplasmes	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Voies respiratoires	Maux de gorge, toux, fièvre, rhinite, céphalée, fatigue.	Interhumaine
Maladies transmises par contact direct				
Gangrène gazeuse	<i>Clostridium perfringens</i>	Muscles striés, tissus cutanés	Douleurs, œdème, emphysème sous-cutané, nécrose tissulaire.	Blessures cutanées
Maladies à streptocoques	<i>Streptococcus agalactiae</i>	Méninges, poumons	Infections néonatales, sepsis, méningite, pneumonie, détresse respiratoire, fièvre, léthargie, apnée, hypotension.	Interhumaine, accouchement
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Peau, muscles squelettiques, tissus graisseux	Cellulite, impétigo, érysipèle, fasciite nécrosante, myosite, syndrome de choc toxique.	Interhumaine
Lèpre	<i>Mycobacterium leprae</i>	Peau, système nerveux	Forme tuberculoidé : lésions cutanées mineures, troubles neurologiques. Forme lépromateuse : lésions cutanées majeures, nodules, insensibilité, destruction cutanée, rhinite lépreuse.	Interhumaine
Ulcère gastrique et gastrite	<i>Helicobacter pylori</i>	Estomac	Gastrite, ulcère gastro-duodénal, lymphome de MALT. Associée à l'adénocarcinome gastrique.	Interhumaine
Maladies à staphylococques	<i>Staphylococcus aureus</i>	Multiplés	Abcès localisés ou disséminés, impétigo, furoncles, anthrax, syndrome de la peau ébouillantée staphylococcique, syndrome de choc toxique, ostéomyélite, endocardite, méningite, néphrite, pharyngite, laryngite, bronchite, pneumonie.	Interhumaine, animale
Tétanos	<i>Clostridium tetani</i>	Système nerveux	Contractions musculaires spasmodiques, crampes, trismus, convulsions, opisthotonos, état de choc.	Blessures cutanées
Trachome	<i>Chlamydia trachomatis</i>	Yeux	Conjonctivite, kératoconjonctivite, pannus, cécité.	Objet, mouche

Annexe 2 : Les acides aminés naturels (29)

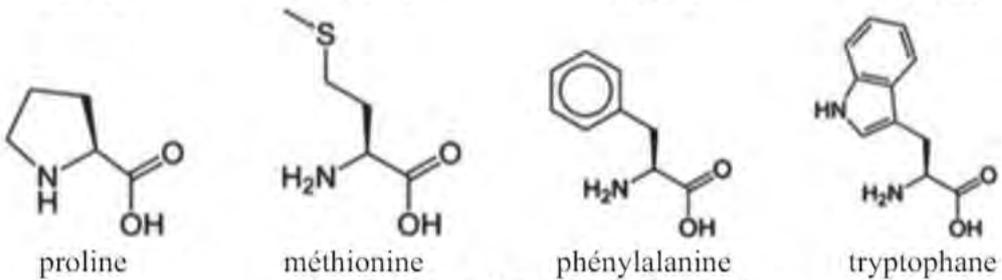
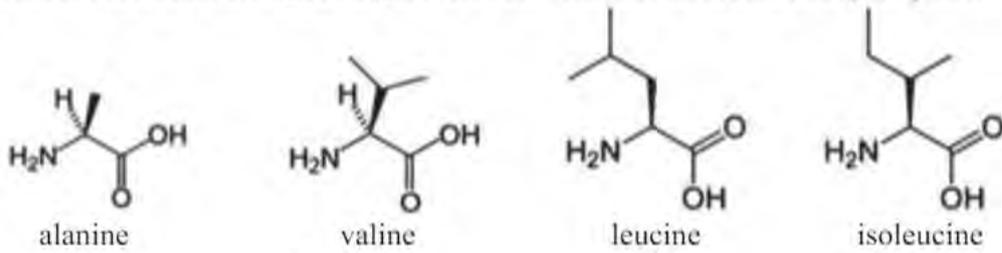


chaînes latérales polaires non chargées



chaînes latérales chargées négativement

chaînes latérales chargées positivement



chaînes latérales hydrophobes

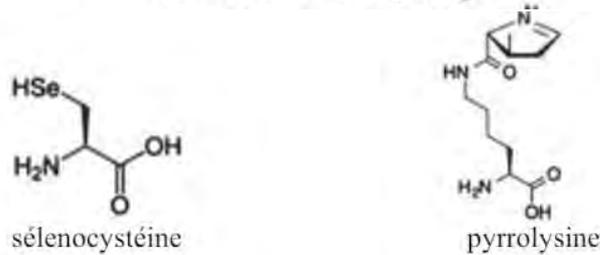


TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 17 : Anatomie des dents (5)

Figure 18 : Vue schématique des principaux constituants de la pulpe (8)

Figure 19 : Structure et organisation d'une cellule procaryote (16)

Figure 20 : Morphologies cellulaires de quelques espèces procaryotes (16)

Figure 21 : Les différentes étapes de la multiplication des virus. (14)

Figure 22 : Chronologie de la réponse antivirale. (18)

Figure 23 : Structure d'un nucléotide en fonction de la base : pyrimidique pour la cytidine et la thymidine, purique pour l'adénosine et la guanosine (en haut). Organisation par paire des nucléotides complémentaires par des liaisons hydrogènes (en bas) (28)

Figure 24 : Code génétique dégénéré. (29)

Figure 25 : Différents états de compaction de l'ADN (Illustration G. Blanchet) (28)

Figure 26 : Différents types de molécules d'ADN ancien fréquemment retrouvées. (34)

Figure 27 : Principe de l'amplification de l'ADN par PCR (28)

Figure 28 : Principe du séquençage selon la méthode Sanger (32)

Figure 29 : Librairie ADN double brin (34)

Figure 30 : Librairie ADN double brin par ligature T/A. (34)

Figure 31 : Librairie ADN simple brin (34)

Figure 16 : Formule générale d'un acide aminé. R représente la chaîne latérale qui varie selon l'acide aminé. (en haut) Chaîne polypeptidique formant la séquence de la protéine, ou structure primaire. (en bas) (29)

Figure 17 : Aspects importants lors d'une analyse paléoprotéomique (61)

BIBLIOGRAPHIE

1. Willmann C. Diagnostiquer un état de santé bucco-dentaire par une double approche macroscopique et métagénomique : application à une population rurale française du XVIII^e siècle. :199. Th. Anthropobiologie. Toulouse. 2020
2. Esclassan R. Étude des caries dentaires en fonction du sexe au sein d'individus adultes de la population médiévale (IX^e-XV^e siècles) de Vilarnau (Pyrénées-Orientales) et synthèse sur l'usure [These de doctorat]. Toulouse 3; 2012.
3. Warinner C, Speller C, Collins MJ. A new era in palaeomicrobiology: prospects for ancient dental calculus as a long-term record of the human oral microbiome. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 19 janv 2015;370(1660):20130376.
4. Debré P. Épidémies: Leçons d'Histoire. médecine/sciences. 1 juin 2020;36(6-7):642-6.
5. Drake RL, Vogl AW, Mitchell AWM. Gray's atlas d'anatomie humaine. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2017. xvi+626.
6. Collège national des enseignants de chirurgie maxillo-faciale et chirurgie orale. Item 344 – UE 11 Infections aiguës des parties molles d'origine dentaire - Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie. Elsevier Masson. 2021. 432 p.
3. Goldberg M. Pulpe dentaire : fonctions, structure et composition. EMC - Médecine buccale 2017;12(1):1-11
8. Simon S, Pertot PM Willy. Endodontie - Editions CdP. Initiatives Sante; 2015. 1347 p.
9. Tziafas D. Experimental bacterial anachoresis in dog dental pulps capped with calcium hydroxide. *J Endod.* 1 déc 1989;15(12):591-5.
10. Gier RE, Mitchell DF. Anachoretic effect of pulpitis. *J Dent Res.* août 1968;47(4):564-70.
11. Robinson HBG, Boling LR. The Anachoretic Effect in Pulpitis I. *Bacteriologic Studies**. *J Am Dent Assoc.* 1 févr 1941;28(2):268-82.
12. Aboudharam G, Lascola B, Raoult D, Drancourt M. Detection of *Coxiella burnetii* DNA in dental pulp during experimental bacteremia. *Microb Pathog.* avr 2000;28(4):249-54.
13. Aboudharam G, Drancourt M, Raoult D. Culture of *C. burnetii* from the dental pulp of experimentally infected guinea pigs. *Microb Pathog.* juin 2004;36(6):349-50.
14. Aboudharam G, La VD, Davoust B, Drancourt M, Raoult D. Molecular detection of *Bartonella* spp. in the dental pulp of stray cats buried for a year. *Microb Pathog.* 1 janv 2005;38(1):47-51.
15. Marroun I, Sené T, Quevauvilliers J. Dictionnaire médical de poche. Elsevier Masson. 720 p.
16. Paolozzi L, Liébart J-C, Bauda P. Microbiologie : Biologie des procaryotes et de leurs virus. Dunod; 2015.

17. Biacchesi S, Chevalier C, Galloux M. Les virus : Ennemis ou alliés ? Editions Quae; 2017.
18. Pasquier C, Bertagnoli S, Dunia D. Virologie humaine et zoonoses : Cours et fiches de synthèse. Dunod; 2013.
19. Astier-Théfenne H, Wolf A, Darles C, Garnotel É. Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44 : application à la coloration de Gram. Rev Francoph Lab. 1 avr 2014;2014(461):37-46.
20. Prodhom G, Bille J. Diagnostic bactériologique rapide : des méthodes conventionnelles aux méthodes moléculaires modernes. Réanimation. juin 2006;15(3):180-6.
21. Health systems and the challenge of communicable diseases: experiences from Europe and Latin America. Maidenhead: Open University Press; 2008.
22. Épidémie et pandémie [Internet]. [cité 15 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.ameli.fr/assure/sante/themes/epidemie/epidemie-et-pandemie>
19. United Nations Environment Programme and International Livestock Research Institute (2020). Preventing the Next Pandemic: Zoonotic diseases and how to break the chain of transmission. Nairobi, Kenya. :82.
24. Spyrou MA, Bos KI, Herbig A, Krause J. Ancient pathogen genomics as an emerging tool for infectious disease research. Nat Rev Genet. juin 2019;20(6):323-40.
25. Paabo S. Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification. Proc Natl Acad Sci. 1 mars 1989;86(6):1939-43.
26. Romana S-P, Bonnefont J-P, Cavazzana-Calvo M, Malan V, Jais J-P. Méthodes d'étude et d'analyse du génome. Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2011. x+148. (Pass'Santé Cours + QCM).
27. Brown TA. The Human Genome. Genomes. 2nd edition. Wiley-Liss; 2002.
28. Tesnière A, Mignon A. Principes de biologie moléculaire - Réanimation médicale. 2009. (Elsevier Masson).
29. Yon-Kahn J, Hervé G, Popot J-L. La structure des protéines Ed. 1. EDP Sciences; 2019.
30. Bird A. Perceptions of epigenetics. Nature. 1 mai 2007;447(7143):396-8.
31. Orlando L, Gilbert MTP, Willerslev E. Reconstructing ancient genomes and epigenomes. Nat Rev Genet. juill 2015;16(7):395-408.
32. Lamoril J, Ameziane N, Deybach J-C, Bouizegarène P, Bogard M. Les techniques de séquençage de l'ADN : une révolution en marche. Première partie. Immuno-Anal Biol Spéc. oct 2008;23(5):260-79.
33. Higuchi R, Bowman B, Freiberger M, Ryder OA, Wilson AC. DNA sequences from the quagga, an extinct member of the horse family. Nature. 15 nov 1984;312(5991):282-4.

34. Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* 1987;155:335-50.
35. Nagpal ML, Boldura O-M, Balta C, Enany S. *Synthetic Biology: New Interdisciplinary Science.* BoD – Books on Demand; 2020. 208 p.
36. Électrophorèse capillaire - Principes : Dossier complet | Techniques de l'Ingénieur [Internet]. [cité 17 oct 2021]. Disponible sur: <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/mesures-analyses-th1/analyse-des-macromolecules-biologiques-42380210/electrophorese-capillaire-p3365/>
37. Orlando L, Gilbert MTP, Willerslev E. Reconstructing ancient genomes and epigenomes. *Nat Rev Genet.* juill 2015;16(7):395-408.
38. Seguin-Orlando A. L'évolution humaine reconstruite par l'ADN ancien. Cours Paléogénomique Master 2 Anthropobiologie intégrative présenté à; 2020 sept.
39. Warinner C, Herbig A, Mann A, Fellows Yates JA, Weiß CL, Burbano HA, et al. A Robust Framework for Microbial Archaeology. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 31 août 2017;18:321-56.
40. Drancourt M, Aboudharam G, Signoli M, Dutour O, Raoult D. Detection of 400-year-old *Yersinia pestis* DNA in human dental pulp: An approach to the diagnosis of ancient septicemia. *Proc Natl Acad Sci.* 13 oct 1998;95(21):12637-40.
41. Raoult D, Aboudharam G, Crubézy E, Larrouy G, Ludes B, Drancourt M. Molecular identification by « suicide PCR » of *Yersinia pestis* as the agent of medieval black death. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 7 nov 2000;97(23):12800-3.
42. Gilbert MTP, Cuccui J, White W, Lynnerup N, Titball RW, Cooper A, et al. Absence of *Yersinia pestis*-specific DNA in human teeth from five European excavations of putative plague victims. *Microbiol Read Engl.* févr 2004;150(Pt 2):341-54.
43. Drancourt M, Raoult D. Molecular detection of *Yersinia pestis* in dental pulp. *Microbiology.* 1 févr 2004;150(2):263-4.
44. Gilbert MTP, Cuccui J, White W, Lynnerup N, Titball RW, Cooper A, et al. Response to Drancourt and Raoult. *Microbiology.* 150(2):264-5.
45. Green RE, Krause J, Ptak SE, Briggs AW, Ronan MT, Simons JF, et al. Analysis of one million base pairs of Neanderthal DNA. *Nature.* nov 2006;444(7117):330-6.
46. Miller W, Drautz DI, Ratan A, Pusey B, Qi J, Lesk AM, et al. Sequencing the nuclear genome of the extinct woolly mammoth. *Nature.* nov 2008;456(7220):387-90.
47. Gamba C, Jones ER, Teasdale MD, McLaughlin RL, Gonzalez-Fortes G, Mattiangeli V, et al. Genome flux and stasis in a five millennium transect of European prehistory. *Nat Commun.* 21 oct 2014;5(1):5257.
48. Damgaard PB, Margaryan A, Schroeder H, Orlando L, Willerslev E, Allentoft ME. Improving access to endogenous DNA in ancient bones and teeth. *Sci Rep.* 17 juin 2015;5(1):11184.

49. Margaryan A, Hansen HB, Rasmussen S, Sikora M, Moiseyev V, Khoklov A, et al. Ancient pathogen DNA in human teeth and petrous bones. *Ecol Evol.* 2018;8(6):3534-42.
50. Grimoud A-M, Mauger MB, Lodter JP. Critères de sélection d'échantillons dentaires pour l'étude de l'ADN ancien. *Antropo.* 2004;(6):43-51.
51. Metzker ML. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet.* janv 2010;11(1):31-46.
52. Bos KI, Jäger G, Schuenemann VJ, Vågane ÅJ, Spyrou MA, Herbig A, et al. Parallel detection of ancient pathogens via array-based DNA capture. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 19 janv 2015;370(1660):20130375.
53. Illumina. Illumina Sequencing by Synthesis [Internet]. 2016 [cité 2 nov 2021]. Disponible sur: <https://www.youtube.com/watch?v=fCd6B5HRaZ8>
54. Rasmussen S, Allentoft ME, Nielsen K, Orlando L, Sikora M, Sjögren K-G, et al. Early Divergent Strains of *Yersinia pestis* in Eurasia 5,000 Years Ago. *Cell.* 22 oct 2015;163(3):571-82.
55. Bos KI, Schuenemann VJ, Golding GB, Burbano HA, Waglechner N, Coombes BK, et al. A draft genome of *Yersinia pestis* from victims of the Black Death. *Nature.* oct 2011;478(7370):506-10.
56. Wagner DM, Klunk J, Harbeck M, Devault A, Waglechner N, Sahl JW, et al. *Yersinia pestis* and the plague of Justinian 541-543 AD: a genomic analysis. *Lancet Infect Dis.* avr 2014;14(4):319-26.
57. Wiechmann I, Harbeck M, Grupe G. *Yersinia pestis* DNA Sequences in Late Medieval Skeletal Finds, Bavaria. *Emerg Infect Dis.* nov 2010;16(11):1806-7.
58. Spyrou MA, Tikhbatova RI, Feldman M, Drath J, Kacki S, Beltrán de Heredia J, et al. Historical *Y. pestis* Genomes Reveal the European Black Death as the Source of Ancient and Modern Plague Pandemics. *Cell Host Microbe.* juin 2016;19(6):874-81.
59. Bos KI, Herbig A, Sahl J, Waglechner N, Fourment M, Forrest SA, et al. Eighteenth century *Yersinia pestis* genomes reveal the long-term persistence of an historical plague focus. Neher RA, éditeur. *eLife.* 21 janv 2016;5:e12994.
60. Drancourt M, Signoli M, Dang LV, Bizot B, Roux V, Tzortzis S, et al. *Yersinia pestis* *Orientalis* in Remains of Ancient Plague Patients. *Emerg Infect Dis.* févr 2007;13(2):332-3.
61. Hendy J, Welker F, Demarchi B, Speller CF, Warinner C, Collins MJ. A Guide to Ancient Protein Studies. :31.
62. Wadsworth C, Buckley M. Proteome degradation in fossils: investigating the longevity of protein survival in ancient bone. *Rapid Commun Mass Spectrom.* 2014;28(6):605-15.
63. Boros-Major A, Bona A, Lovasz G, Molnar E, Marcsik A, Palfi G, et al. New perspectives in biomolecular paleopathology of ancient tuberculosis: a proteomic approach. *J Archaeol Sci.* janv 2011;38(1):197-201.
64. Buckley M. Zooarchaeology by Mass Spectrometry (ZooMS) Collagen Fingerprinting for the Species Identification of Archaeological Bone Fragments. In: Giovas CM, LeFebvre

MJ, éditeurs. *Zooarchaeology in Practice: Case Studies in Methodology and Interpretation in Archaeofaunal Analysis*. Cham: Springer International Publishing; 2018. p. 227-47.

65. Bian Y, Zheng R, Bayer FP, Wong C, Chang Y-C, Meng C, et al. Robust, reproducible and quantitative analysis of thousands of proteomes by micro-flow LC-MS/MS. *Nat Commun*. 9 janv 2020;11:157.
66. Gilbert MTP, Bandelt H-J, Hofreiter M, Barnes I. Assessing ancient DNA studies. *Trends Ecol Evol*. oct 2005;20(10):541-4.
67. Barbieri R, Mekni R, Levasseur A, Chabrière E, Signoli M, Tzortzis S, et al. Paleoproteomics of the Dental Pulp: The plague paradigm. *PloS One*. 2017;12(7):e0180552.
68. Bianucci R, Rahalison L, Massa E, Peluso A, Ferroglio E, Signoli M. Technical Note: A Rapid Diagnostic Test Detects Plague in Ancient Human Remains : An Example of the Interaction Between Archeological and Biological Approaches (Southeastern France, 16th–18th Centuries). *Am J Phys Anthropol*. 1 juill 2008;136:361-7.
69. Bianucci R, Rahalison L, Peluso A, Massa ER, Ferroglio E, Signoli M, et al. Plague immunodetection in remains of religious exhumed from burial sites in central France. *J Archaeol Sci*. 2009;6.
70. Corthals A, Koller A, Martin DW, Rieger R, Chen EI, Bernaski M, et al. Detecting the Immune System Response of a 500 Year-Old Inca Mummy. *PLOS ONE*. 25 juill 2012;7(7):e41244.
71. Welker F, Hajdinjak M, Talamo S, Jaouen K, Dannemann M, David F, et al. Palaeoproteomic evidence identifies archaic hominins associated with the Châtelperronian at the Grotte du Renne. *Proc Natl Acad Sci*. 4 oct 2016;113(40):11162-7.
72. Cappellini E, Jensen LJ, Szklarczyk D, Ginolhac A, da Fonseca RAR, Stafford TW, et al. Proteomic analysis of a pleistocene mammoth femur reveals more than one hundred ancient bone proteins. *J Proteome Res*. 3 févr 2012;11(2):917-26.
73. Orlando L, Ginolhac A, Zhang G, Froese D, Albrechtsen A, Stiller M, et al. Recalibrating Equus evolution using the genome sequence of an early Middle Pleistocene horse. *Nature*. 4 juill 2013;499(7456):74-8.
74. Schweitzer MH, Zheng W, Organ CL, Avci R, Suo Z, Freimark LM, et al. Biomolecular characterization and protein sequences of the Campanian hadrosaur *B. canadensis*. *Science*. 1 mai 2009;324(5927):626-31.

**PALEOPATHOLOGIE DE LA PULPE DENTAIRE : COMMENT LA
PULPE DE NOS DENTS PEUT NOUS RENSEIGNER SUR LES
EPIDEMIES DU PASSE ?**

RESUME EN FRANÇAIS :

En anthropobiologie, la dent est un outil incontournable. L'analyse de son tissu conjonctif, la pulpe dentaire, issu de restes humains anciens, permet d'éclairer nos connaissances sur les épidémies historiques en utilisant des techniques issues de la biologie moléculaire. A travers l'étude des différentes épidémies de peste, ce travail présente les apports de la paléogénomique et de la paléoprotéomique en infectiologie à partir de marqueurs obtenus via la pulpe dentaire.

TITRE EN ANGLAIS: PALEOPATHOLOGY OF THE DENTAL PULP: HOW CAN THE DENTAL PULP OF OUR TEETH TELL US ABOUT PAST EPIDEMICS?

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Chirurgie dentaire

MOTS-CLES : pulpe dentaire, paléopathologie, paléogénomique, paléoprotéomique, Yersinia pestis

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier

Faculté de chirurgie dentaire 3 chemin des Maraîchers 31062 Toulouse Cedex

Directeur de thèse : Pr Michel SIXOU